

Série A N° 4.138
N° d'ordre : 4.989

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Fernande CHATAGNER

1^{re} THÈSE :

INFLUENCE CHEZ LE RAT DES HORMONES
THYROIDIENNES SUR QUELQUES ENZYMES
A PHOSPHATE DE PYRIDOXAL.

2^e THÈSE :

Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 27 juin 1963, devant la Commission d'examen

Mlle LE BRETON Président

M. MONOD

M. LEDERER

} Examineurs

I M P R I M E R I E

R. FOULON & C^{ie}

29, RUE DEPARCIEUX, 29

PARIS — 1963

Série A N° 4.138
N° d'ordre : 4.989

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Fernande CHATAGNER

1^{re} THÈSE :

INFLUENCE CHEZ LE RAT DES HORMONES
THYROIDIENNES SUR QUELQUES ENZYMES
A PHOSPHATE DE PYRIDOXAL.

2^e THÈSE :

Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 27 juin 1963 devant la Commission d'examen

Mlle LE BRETON Président

M. MONOD

M. LEDERER

} Examineurs

IMPRIMERIE
R. FOULON & C^{ie}
29, RUE DEPARCIEUX, 29
PARIS — 1963



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen M. ZAMANSKY

PROFESSEURS

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure	THELLIER	T	Physique du Globe
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées	L'HÉRITIER	T	Biologie générale (Orsay)
GRASSÉ	T	Evolution des êtres organisés	GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay)
PRÉVOST	T	Chimie organique	PONCIN	T	Mécanique générale
WYART	T	Minéralogie et Cristallographie	DUBREIL	T	Arithmétique et Théorie des nombres
TEISSIER	T	Zoologie	QUELET	T	Chimie organique
MANGENOT	T	Biologie végétale (Orsay)	CAGNIARD	T	Géophysique appliquée
AUGER	T	Physique quantique et Relativité	CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire
MONNIER	T	Physiologie générale	CIVILLIER	T	Micropaléontologie
PIVETEAU	T	Paléontologie	JUNG	T	Pétrographie
ROCARD	T	Physique (E.N.S.)	TRILLAT	T	Microscopie et Diffraction électronique
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.)	WIEMANN	T	Chimie organ. et struct.
LAFFITTE	T	Chimie générale	JACQUINOT	T	Spectroscopie et Physique céleste (Orsay)
FAVARD	T	Géométrie supérieure	VASSY	T	Physique de l'atmosphère
COULOMB	T	Physique du Globe	DESTOUCHES	T	Théories physiques
Mlle COUSIN	T	Biologie anim. (S.P.C.N.)	AMIEL	T	Chimie générale
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale	HOCART	T	Minéral. et Cristallogr.
DRACH	T	Zoologie	J.-P. MATHIEU	T	Physique (Optique)
KASTLER	T	Physique (E.N.S.)	COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.)
EPHROSSI	T	Génétique	MAY	T	Zoologie (Orsay)
RIVIÈRE	T	Géologie S.P.C.N. et sédimentation.	CHOQUET	T	Théorie des fonctions et Topologie
GAUTHERET	T	Biologie végét. (P.C.B.)	FELDMANN	T	Biologie végétale marine
R. LUCAS	T	Recherches physiques	GUINIER	T	Phys. des Solides (Orsay)
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire	JOST	T	Physiologie comparée
ARNULF	T	Optique appliquée	FORTET	T	Calcul des Probabilités et Physique mathématique
MORAND	T	Physique Enseignement	SCHWARTZ	T	Calcul différ. et Intégral
SOLEILLET	T	Physique (P.C.B.)	CHOUARD	T	Physiologie végétale
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides	MALAVARD	T	Aviation (Technique aéronautique)
DANJON	T	Astronomie	BRELOT	T	Calcul différ. et intégral
PETIT	T	Biologie maritime	NORMANT	T	Chimie organique
QUENEY	T	Météorologie et Dynamique atmosphérique	BÉNARD	T	Chimie minérale
GALLIEN	T	Embryologie	BUVAT	T	Botanique (E.N.S.)
EICHHORN	T	Botanique	DUGUÉ	T	Statistiques mathématiques
DE CUGNAC	T	Biologie végét. (S.P.C.N.)	SOULAIRAC	T	Psychophysiologie
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie physique	ULRICH	T	Physiologie végétale
			MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée
			KIRRMANN	T	Théories chimiques
			CHADEFAUD	T	Botanique

Mlle LE BRETON	T	Physiologie de la nutrition	GUINOCHET	T	Biol. végétale (S.P.C.N., Orsay)
SALEM	T	Mathématiques générales	ROLLET	T	Chimie minérale
LELONG	T	Application de l'analyse à la géométrie	Mlle JOSIEN	T	Chimie (S.P.C.N.)
DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie comparées	CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes
EHRESMANN	T	Topologie algébrique	ARNOULT	T	Electronique (Orsay)
FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.)	CHAPELLE	T	Physique (Orsay)
GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique	DELANGE	T	Mathématiques I (Orsay)
GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.)	DENY	T	Mathématiques générales (Orsay)
PISOT	T	Technique Mathém. de la Physique	GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides
ROCH	T	Géologie	G. LUCAS	T	Géologie
SCHATZMAN	T	Astrophysique	ALLARD	T	Chimie physique
TERMIER	T	Paléont. stratigraphique	BERTHELOT	T	Physique des particules fondamentales
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales	BRICARD	T	Météorologie et Physique de l'Atmosphère
LENNUIER	T	Physique (M.G.P.)	Mme ALBE- FESSARD	T	Psychophysiologie
RIZET	T	Génétique	FRIEDEL	T	Phys. des Solides (Orsay)
ROUTHIER	T	Géologie appliquée	M. JULIA	T	Etudes des Moléculaires naturelles complexes
Mme TONNELAT	T	Physique théorique	LENDER	T	Biologie anim. (S.P.C.N., Orsay)
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.)	MAGAT	T	Physico-chimie des radio-éléments
SOUCHAY	T	Chimie générale	Mlle QUINTIN	T	Electrochimie
AIGRAIN	T	Electrotechnique générale	MONOD	T	Chimie du métabolisme
BRUSSET	T	Chimie systématique	BENOIT	T	Physiol. anim. (Orsay)
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay)	DE POSSEL	T	Analyse numérique
Mme CHAIX	T	Chimie biologique	CHARLOT	T	Chimie analytique
Mme HUREL-PY.	T	Biologie végét. (P.C.B.)	LEMÉE	T	Physiol. vég. (B.M.P.V., Orsay)
PIAUX	T	Chimie (M.P.C.)	GUÉRIN	T	Chimie M.P.C. (Orsay)
BRUN	T	Mécanique théorique des fluides	M. CHATELET	T	Chimie (P.C.B.)
LEDERER	T	Chimie biologique	JEAN	T	Physique nucl. (Orsay)
Mme DUBREIL	T	Mathématiques (Agrég.)	MATTLER	T	Physique (S.P.C.N.)
Mme LE LONG	T	Mathématiques (E.N.S.)	BERGERARD	T	Zoologie (Orsay)
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.)	BERTIN	T	Electronique (Orsay)
COTTE	T	Physique électricité	BOUSSIÈRES		Chimie des Radioéléments (Orsay)
J.-E. DUBOIS	T	Chimie organique	Mme COUTURE	T	Thermodynamique et Mécanique physique
LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.)	ELLENBERGER	T	Géologie des grandes régions du globe
A. MICHEL	T	Chimie minérale (Orsay)	FRANC	T	Biologie animale (P.C.B.)
OLMER	T	Energétique générale	SCHNELL		Botanique trop. (Orsay)
ROUAULT	T	Electricité (Orsay)	STOLKOWSKI	T	Physiologie végétale
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée	ACHER		Chimie biol. (Orsay)
BACHEWITZ	T	Chimie physique	BAUDOUIN		Biologie animale (P.C.B.)
BROSSEL	T	Physique atomique	BEAUMONT		Biologie anim. (S.P.C.N.)
BUSER	T	Physiologie comparée	BLAMONT	T	Géophysique Ionosphère
CAMUS	T	Physiol. végét. (B.M.P.V.)	BOURREAU		Botanique
CASTAING	T	Physique II Thermod. (Orsay)	D. CURIE		Physique (M.G.P.)
CURIEN	T	Minéralogie et Cristallographie	DURAND-DELGA		Géologie
MOYSE	T	Physiol. végét. (Orsay)	FREON	T	Chimie organ. (Orsay)
NOIROT	T	Evolution des Etres org.	HELLER	T	Physiologie végétale
PANNETIER	T	Chimie générale	TORTRAT	T	Calcul des probabilités
POSSOMPE	T	Zoologie	CAILLEUX		Géologie (S.P.C.N.)
PULLMANN	T	Chimie quantique	MAGNAN	T	Physique (S.P.C.N.)
TEILLAC	T	Physique nucléaire et Radioactivité			
TONNELAT	T	Biologie physico-chimique			
VILLE	T	Econométrie			
WILLEMART	T	Chimie (P.C.B.)			
DODE	T	Chimie (Orsay)			
FREYMAN	T	Recherches physiques			

DAUIDEL	T	Mécanique ondulatoire appliquée à la Chimie théorique et à la Physique nucléaire	KOURGANOFF ..	T	Astronomie (Orsay)
Mlle FOURCROY		Biologie végét. (S.P.C.N.)	THIRY	T	Mécanique céleste
Mme CHOQUET-BRUHAT	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste	ABELES		Physique (S.P.C.N.)
Mlle VEIL		Physiologie générale	AMAT		Physique (P.C.B.)
LWOFF	T	Microbiologie	AUBOIN		Géologie
SIESTRUNCK	T	Mécanique physique et expérimentale	Mme BENOIT-GUEUTAL		Physique nucléaire et radioactivité
LACOMBE	T	Métallurgie des métaux nucléaires	BOUGIS		Biologie marine (Villefranche-sur-Mer)
BROCHARD	T	Physique (P.C.B., Orsay)	BRUHAT	T	Mathématiques (M.P.C.)
CABANNES	T	Mécanique générale	BRUNN	T	Géologie histor. (Orsay)
LESIEUR	T	Mathématiques I (Orsay)	CHABBAL		Physique (M.G.P., Orsay)
MAZET	T	Mécanique génér. (Orsay)	DEHELIVELS	T	Mathémat. propé. (Orsay)
CAIRE		Géographie physique et Géologie dynamique	D'ESPAGNAT		Physique théor. (Orsay)
COMOLET	T	Mécanique des fluides	FURON		Géologie (S.P.C.N.)
CORABCEUF		Physiologie anim. (Orsay)	Mme GANS	T	Génétique
DELLOUE		Physique de l'exosphère	GENEVES		Biologie végétale (P.C.B.)
GORENFLOT		Botanique II (Orsay)	GUILBERT		Physiq. (C.U.S., Orléans)
HOUILLOIN		Biologie animale (P.C.B.)	HUPE		Pétrographie
J. JULLIEN		Chimie (S.P.C.N., Orsay)	HOLLANDE	T	Biologie générale
MALGRANGE	T	Tech. math. de la Physique (Orsay)	LIONS	T	Analyse numérique
OLIVIER		Anthropologie	MAITTE		Chimie (P.C.B.)
NOZERAN	T	Botanique II (Orsay)	MÉYER		Physique propédeutique
BLANC-LAPIERRE	T	Physique E.N.S. (Orsay)	NICOLAS		Géologie appliquée
CHEVAUGEON	T	Botanique (Orsay)	PANIGEL		Biologie générale
KAHANE	T	Mathématiques (Orsay)	RAVIER		Pétrographie
SAMUEL	T	Math. E.N.S. féminine	ROSEAU	T	Mécanique théorique des fluides
			ROUBINE		Electronique
			SILBER	T	Chimie (P.C.B.)
			UEBERSFELD	T	Electronique
			YVON	T	Théories physiques

Secrétaire général R. POUILLAIN

A propos d'une réaction enzymatique nettement mise en évidence dans un organisme ou dans un tissu, les problèmes les plus étudiés actuellement semblent pouvoir être rangés en deux vastes catégories, qui ne sont d'ailleurs pas sans interférences, l'une groupant les travaux liés à la recherche des mécanismes de biosynthèse de l'enzyme catalyseur de ce phénomène, l'autre ceux concernant l'étude des mécanismes de contrôle de l'activité de cet enzyme. Dans ce dernier domaine, un champ de recherche particulièrement étendu semble avoir été ouvert, chez les animaux, grâce à l'emploi des hormones, mais l'intérêt suscité par de telles expériences provient principalement du fait que les résultats obtenus, lorsqu'ils seront suffisamment nombreux et suffisamment coordonnés, permettront peut-être de déterminer le mécanisme « primaire » d'action des hormones sur le métabolisme, c'est-à-dire de définir, au niveau de la cellule, la modification provoquée par une hormone, modification dont peuvent découler, logiquement et expérimentalement, toutes les autres perturbations métaboliques constatées lors de l'action de cette hormone. Il est évidemment superflu de préciser qu'un tel objectif n'a encore jamais été atteint et que le mécanisme « primaire » d'action n'est connu de façon certaine pour aucune hormone. Cependant, de nombreux efforts relevant d'ambitions plus modestes sont déployés, qui ont pour objet la mise en évidence et l'étude des variations métaboliques entraînées par les hormones et, malgré les difficultés d'interprétation de certaines données, difficultés dues à la complexité des phénomènes mis en jeu, l'on possède dès maintenant un nombre non négligeable de résultats qui font apparaître clairement des modifications de diverses étapes métaboliques sous l'action de nombreuses hormones ; deux revues récentes ont pu être consacrées, l'une à l'examen des effets des hormones sur les cellules et les constituants cellulaires [1], l'autre à la discussion de quelques aspects du contrôle hormonal des activités enzymatiques [2]. Si l'on essaye alors de dégager d'après l'ensemble des résultats acquis, les principaux thèmes de recherche à propos de la régulation du métabolisme par les hormones, il semble possible d'en souligner deux : l'un, qui fut pendant plusieurs années le plus

important, traite des altérations des phénomènes de perméabilité cellulaire, l'autre, qui prend de plus en plus d'ampleur, concerne la mesure des variations des taux de divers substrats ou de divers coenzymes ainsi que la détermination des modifications de l'activité de certains enzymes.

L'objet du travail présenté ici est d'apporter une contribution à ce deuxième aspect du problème : l'influence, chez le rat, des hormones thyroïdiennes sur l'activité de quelques systèmes enzymatiques à phosphate de pyridoxal a été systématiquement examinée.

De très nombreux travaux destinés à apporter quelques éclaircissements sur leur mécanisme d'action ont déjà été effectués sur les hormones thyroïdiennes, il serait hors de propos de refaire à nouveau une bibliographie complète de cette question, d'autant plus que l'on dispose de mises au point récentes et très documentées. Signalons celle due à HOCH [3] qui est consacrée aux actions biochimiques des hormones thyroïdiennes, celle de TAPLEY et HATFIELD [4] plus particulièrement limitée à l'action de la thyroxine sur le gonflement des mitochondries et enfin celle, un peu plus ancienne, de PITT RIVERS et TATA [5] dans laquelle ces auteurs traitent aussi bien la biosynthèse des hormones thyroïdiennes que leur transport et leurs actions physiologiques, et dégagent les principales hypothèses concernant leur mécanisme d'action. Ces hypothèses sont au nombre de trois :

- Action des hormones thyroïdiennes sur la perméabilité des membranes.
- Interaction des hormones thyroïdiennes avec les ions métalliques.
- Action directe sur les enzymes.

Notre travail s'intègre donc dans les recherches faites dans ce dernier domaine. A l'origine de cette étude se trouvent des observations de HOLTZ et coll. [6], LITWACK [7] et HORVATH [8] d'après lesquelles, dans le foie du rat traité par les hormones thyroïdiennes, la décarboxylation de la dihydroxyphénylalanine, la transamination de la tyrosine avec l'acide α -cétoglutarique, la désulfhydratation de la cystéine, la déshydratation de la sérine et de la thréonine sont significativement diminuées. Or, le seul point commun apparent des enzymes catalysant ces réactions est qu'ils nécessitent tous le phosphate de pyridoxal comme coenzyme. Etant donné que nous avons auparavant étudié chez le rat quelques systèmes enzymatiques à phosphate de pyridoxal intervenant en particulier dans le métabolisme de divers acides aminés soufrés, il nous a semblé intéressant, d'abord d'étendre à ces enzymes les études précédentes, c'est-à-dire de voir si des injections de thyroxine sont susceptibles de modifier leur

activité, ensuite de déterminer les conséquences de la thyroïdectomie, puis d'essayer de préciser le mécanisme d'action des hormones thyroïdiennes sur les enzymes à phosphate de pyridoxal.

Ce mémoire comporte quatre parties :

- A — La description du matériel utilisé et des techniques mises en œuvre.
 - B — L'exposé des modifications observées sur les différents enzymes à la suite de traitements hormonaux.
 - C — L'exposé des recherches faites en vue de déterminer les mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes sur les enzymes considérés.
 - D — Une discussion de l'ensemble des résultats, et les conclusions qui peuvent en découler.
-

Matériel et Méthodes

Les principaux produits utilisés ont l'origine suivante :

- DL-thyroxine, chlorhydrate de L-cystéine, DL-cystine, chlorhydrate de pyridoxine ; tous les acides aminés, toutes les bases puriques et pyrimidiques et toutes les vitamines hydrosolubles utilisées pour les préparations soit du régime synthétique pour les rats, soit du milieu de culture de *Streptococcus faecalis* ; glutathion réduit, acide ascorbique. (Ets Hoffmann-La Roche, Paris.)
- Phosphate de pyridoxal. (Roche Products, Londres et Ets Hoffmann-La Roche, Paris.)
- Concentré d'huile de foie de morue. (Don des Ets Specia, Paris.)
- Sulfaguanidine. (Laboratoire Beytout, Paris.)
- Vitamine B12 (Docémine). (Don des Laboratoires Roussel, Paris.)
- Acide L-cystéinesulfinique ; L-3,3',5-triiodothyronine. (California Corporation for Biochemical Research, Los Angeles, U.S.A.)
- Glycogène. (Eastman-Kodak, Rochester, U.S.A.)
- Glucose-1-phosphate (sel disodique $4\text{ H}_2\text{O}$) ; adénosine-5'-monophosphate (sel disodique H_2O). (Boehringer et Soehne, Mannheim, Allemagne.)
- Galettes pour rats (Biscuits Causse). (Ets Causse, Paris.)
- Caséine dévitaminée spéciale. (Ets Clin-Byla, Paris.)
- Souche de *Streptococcus faecalis* (souche R, ATCC 8043). (Don de l'Institut Pasteur, Paris.)
- Préparation d'organes lumineux de lucioles (*Photinus pyralis*) ; adénosine-5'-triphosphate cristallisé (ATP). (Ets Sigma, Saint-Louis, U.S.A.)

CHAPITRE 1

Traitement des animaux

Toutes les expériences sont faites sur des rats, mâles ou femelles, de souche Wistar provenant soit du Centre de Sélection des Animaux de Laboratoires du C.N.R.S., soit de l'Élevage des Ets A.E.C. à Commeny, et qui, dans la plupart des cas, sont soumis à l'alimentation habituelle de l'élevage (biscuits Causse); pour certaines déterminations, les animaux reçoivent un régime synthétique qui sera décrit ultérieurement.

1. *Injectons de thyroxine :*

Elles sont faites par voie sous-cutanée. La DL-thyroxine est dissoute dans une solution diluée de soude, puis on ajoute un volume convenable d'une solution de chlorure de sodium telle que la concentration finale en chlorure de sodium du liquide à injecter soit 0,9 % ; les quantités de thyroxine injectées varient de 10 à 500 μg par animal et par jour, le volume injecté étant toujours 0,5 ml ; même dans le cas des solutions les plus concentrées en thyroxine, le pH du liquide injecté ne dépasse pas 9. Les rats témoins reçoivent des injections d'une solution de chlorure de sodium à 0,9 % dont le pH est amené à 9.

2. *Injectons de pyridoxine et de diverses substances :*

Le chlorhydrate de pyridoxine est dissous dans de l'eau distillée et le liquide est amené à neutralité par addition de quelques gouttes de soude diluée. Les solutions d'acide ascorbique et de glutathion sont faites dans de l'eau bidistillée dans un appareil entièrement en verre et sont neutralisées. La vitamine B12 est dissoute dans une solution de chlorure de sodium à 0,9 %. Le protocole expérimental de chaque essai sera décrit ou indiqué dans les tableaux.

3. *Thyroidectomie :*

Elle est effectuée par ablation chirurgicale sous anesthésie à l'éther. Comme il y a également ablation des parathyroïdes, les animaux opérés reçoivent comme boisson une solution de lactate de calcium à 1 %. D'une manière générale, les rats sont utilisés trois semaines après l'opération, ce qui est classiquement considéré comme particulièrement convenable pour mettre en évidence les effets de la thyroidectomie.

4. *Ovariectomie :*

Pour certaines expériences, les rates ont été ovariectomisées ; l'ablation chirurgicale des ovaires est effectuée sous anesthésie à l'éther. Enfin, dans quelques cas, les deux opérations (thyroidectomie et ovariectomie) ont été faites simultanément sur les mêmes animaux.

5. *Régime synthétique complet ou carencé en vitamine B6 :*

Le régime employé a la composition suivante : 18 % de caséine, 73 % de saccharose, 5 % d'huile de germes de maïs, 0,4 % de DL-cystine, 0,5 % de sulfaguanidine et 4 % d'un mélange de sels ; le mélange de sels comporte, pour 100 g de régime : 0,28 g de chlorure de sodium, 1,67 g de phosphate bicalcique ($2 \text{ H}_2\text{O}$), 1,60 g de citrate de potassium ($1 \text{ H}_2\text{O}$), 0,38 g de sulfate de magnésium ($7 \text{ H}_2\text{O}$), 64 mg de citrate ferrique ($6 \text{ H}_2\text{O}$), 4 mg d'iodure de potassium, 3 mg de fluorure de sodium, 0,8 mg de sulfate de manganèse ($1 \text{ H}_2\text{O}$), 0,35 mg d'iodure cuivreux, 1,3 mg d'alun de potassium ($24 \text{ H}_2\text{O}$) et 0,35 mg de chlorure de zinc. En outre, on ajoute pour 100 g de régime : 1 mg de thiamine, 1 mg de riboflavine, 4 mg de pantothénate de calcium, 10 mg d'acide nicotinique, 0,025 mg de biotine, 100 mg d'inositol, 0,1 mg d'acide folique, 6 mg d'acide *p*-aminobenzoïque et 250 mg de chlorure de choline. Les vitamines liposolubles sont apportées par un concentré d'huile de foie de morue titré à 2.000 u.i. de vitamine A et 500 u.i. de vitamine D par ml ; pour 100 g de régime, on emploie 0,5 ml de ce concentré.

Les rats reçoivent tous, pendant six jours avant le début de l'expérience, ce régime enrichi de 1 mg de pyridoxine pour 100 g, ceci pour leur permettre de s'accoutumer à cette alimentation, puis ensuite ils sont séparés en deux groupes : les animaux témoins conservent le régime complet pendant toute la durée de l'expérience, alors que les

animaux carencés reçoivent le régime dépourvu de pyridoxine. Tous les rats disposent, à volonté, d'eau et de papier filtre. Quelques remarques s'imposent à propos de la composition de ce régime d'ailleurs classique et que l'on peut considérer comme équilibré puisqu'il donne en fait, lorsqu'il est complété en pyridoxine, une croissance correcte des animaux. L'introduction de 0,4 % de DL-cystine est due au fait que la caséine est légèrement déficitaire en acides aminés soufrés. La sulfaguanidine est destinée à raréfier la flore intestinale qui serait susceptible de synthétiser de la pyridoxine. Le choix de la teneur en sels et en vitamines a été fait après examen de nombreuses indications bibliographiques.

CHAPITRE II

Mesure des activités enzymatiques

1. *Préparations enzymatiques :*

a) CERVEAU :

Les homogénats de cerveau sont préparés comme suit : le cerveau, prélevé aussi rapidement que possible après le sacrifice de l'animal, est pesé et broyé avec 2 ou 3 fois son poids d'eau distillée refroidie, dans un broyeur de Potter-Elvehjem. Le temps maximum qui s'écoule entre le prélèvement du cerveau et le début des mesures de l'activité enzymatique ne dépasse pas vingt minutes.

b) FOIE :

Pour certaines déterminations, il est possible d'utiliser des homogénats de foie (*H*) obtenus de la manière suivante : aussitôt après le sacrifice de l'animal, le foie est prélevé, placé sur de la glace, puis rapidement pesé et broyé dans un appareil de Potter-Elvehjem, en présence d'un volume d'eau distillée froide égal à trois fois le poids de l'organe. Pour d'autres mesures, il est nécessaire de fractionner l'homogénat par centrifugation différentielle ; dans ce cas, le foie est d'abord perfusé avec une solution refroidie de chlorure de sodium à 0,9 %, puis broyé dans une solution de saccharose à 8,5 % dans les mêmes conditions de concentration que précédemment. L'homogénat ainsi obtenu est alors centrifugé à froid selon les indications de JOHNSON et coll. [9], c'est-à-dire soit pendant 2 h 30 à 3 heures à 25.000 *g* (centrifugeuse International PR₂, tête démultipliée), soit pendant 45 à 60 minutes à 105.000 *g* (ultracentrifugeuse Spinco). L'un ou l'autre de ces procédés permet d'obtenir d'une part le surnageant soluble (*S*), c'est-à-dire la fraction non particulaire du foie, d'autre part un culot contenant les débris cellulaires, les noyaux et les fractions particulières. Ce culot, lavé par centrifugation dans la solution de saccharose, ce qui élimine le surnageant résiduel, est

remis en suspension dans un volume de la solution de saccharose égal au volume initial de l'homogénat. C'est cette suspension que nous désignerons sous le nom de culot (C). Dans quelques cas, les préparations enzymatiques sont dialysées ; la dialyse est toujours faite à froid, pendant environ 20 heures, contre une solution de bicarbonate de sodium à 0,01 %.

Enfin, pour d'autres mesures, le foie est broyé selon les indications de SUTHERLAND et WOSILAIT [10] en présence d'une solution refroidie de fluorure de sodium 0,1 M contenant du phosphate dipotassique 0,005 M ; on emploie 4 ml de cette solution pour 1 g de foie.

2. *Mesure de la décarboxylation de l'acide L-glutamique :*

La décarboxylation enzymatique de l'acide L-glutamique dans le **cerveau** du rat a été mise en évidence et étudiée par WINGO et AWAPARA [11], elle conduit à une formation de CO_2 et d'acide γ -aminobutyrique, il s'agit donc d'une réaction catalysée par une α -décarboxylase. ROBERTS et FRANKEL [12] ont établi que le phosphate de pyridoxal (PLP) est le coenzyme de cette décarboxylase. Ultérieurement, BERGERET et coll. [13] ont montré que le cerveau du rat est également capable de décarboxyler l'acide L-cystéinesulfinique et l'acide L-cystéique, et, d'après les résultats de DAVISON [14], ces deux substrats seraient attaqués par la décarboxylase de l'acide glutamique, mais avec des vitesses plus faibles que celle de la dégradation de l'acide glutamique. Toujours d'après le même auteur, l'enzyme est associé aux fractions particulières du cerveau.

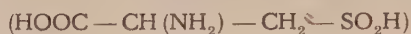
La mesure de la vitesse de décarboxylation est faite selon la technique manométrique de Warburg au moyen de fioles à une ampoule latérale, dans les conditions déterminées par B. BERGERET [15] et qui sont telles que la mesure de la décarboxylation rend compte de la concentration en enzyme.

La réaction a lieu à 35° en atmosphère d'azote. Le milieu réactionnel est constitué par 2 ml de suspension de broyat de cerveau, 0,8 ml d'une solution de tampon phosphates 0,25 M ($\text{pH} = 6,8$) et 0,1 ml d'une solution de sel de sodium de PLP à 1 mg/ml. 0,2 ml de la solution de substrat neutralisée sont placés initialement dans l'ampoule latérale de la fiole de Warburg, puis introduits dans le compartiment principal ; cette solution est préparée de telle manière que la concentration finale en acide L-glutamique dans le milieu réactionnel soit 10^{-2} M. Le dégagement de CO_2 est suivi pendant vingt minutes.

Les résultats sont exprimés en QCO_2 (μ litres CO_2 dégagé/mg poids sec/heure) compte tenu de la rétention du CO_2 dans les conditions choisies (tampon phosphates). Les QCO_2 sont calculés d'après les vitesses initiales de décarboxylation.

3. *Mesure de la décarboxylation de l'acide L-cystéinesulfonique (ACS) :*

Des recherches antérieures [16] ont montré l'existence, dans le foie du rat, d'un enzyme catalysant la décarboxylation de l'ACS :



en donnant de l'hypotaurine. Cet enzyme, qui nécessite le phosphate de pyridoxal comme coenzyme, est présent dans la fraction non particulaire du foie [14]. Cependant, la mesure de la décarboxylation de l'ACS peut être faite directement sur un homogénat car les réactions de transamination de l'ACS [17], qui conduisent à la désulfination et sont provoquées par des enzymes des fractions particulières, sont très faibles lorsque l'on n'ajoute pas d'acide cétonique à l'homogénat et ainsi ne modifient pas de manière sensible la concentration en substrat. Il avait été établi que ces réactions de décarboxylation et de transamination rendent pratiquement compte de toute la quantité d'ACS consommée dans les conditions expérimentales adoptées [18]. Toutefois, un travail récent fait état d'une réaction de désulfination directe [19], c'est-à-dire autre que la désulfination ayant lieu après la transamination, mais nous avons contrôlé que cette réaction ne présente que très peu d'ampleur et donc ne diminue pas non plus de manière importante la concentration en substrat.

La décarboxylation de l'ACS est suivie par la mesure du dégagement de CO_2 selon la technique manométrique de Warburg. La réaction est faite à 37° et en atmosphère d'azote. Les fioles de Warburg (fioles à une seule ampoule latérale) contiennent, pour un volume total de 3,2 ml :

- dans le compartiment principal : du tampon phosphates (pH 6,8) à une concentration telle que la concentration finale dans le milieu réactionnel soit 0,067 M, une quantité convenable de préparation enzymatique (homogénat ou surnageant) et 0,1 ml d'une solution de sel de sodium de PLP à 1 mg/ml ;
- dans l'ampoule latérale : 0,2 ml d'une solution neutralisée d'ACS telle que la concentration finale en substrat soit 10^{-2} M.

Les résultats sont exprimés en QCO_2 (μ litres CO_2 dégagé/mg poids sec/heure) compte tenu de la rétention du CO_2 dans les con-

ditions choisies (tampon phosphates). Les QCO_2 sont calculés à partir des vitesses initiales de décarboxylation. Les conditions adoptées ici ne l'on évidemment pas été *a priori*, mais découlent d'études antérieures faites par B. BERGERET [15], et sont telles que la mesure de la décarboxylation rend compte de la concentration en enzyme.

4. Mesure de la production d'hydrogène sulfuré à partir de la cystéine :

Nous avons établi [20] que la production de H_2S à partir de la cystéine dans le foie du rat est catalysée par deux systèmes enzymatiques qui mettent en jeu des mécanismes différents et dont la localisation intracellulaire est également différente :

- un enzyme, que nous appelons provisoirement désulfurase « soluble » parce qu'elle n'existe que dans la fraction non particulaire d'un homogénat de foie, qui nécessite le PLP comme coenzyme et catalyse la réaction suivante :



Cet enzyme est très probablement identique à la cystathionase-homosérine désaminase [21, 22] cristallisée par MATSUO et GREENBERG [23];

- un ensemble de deux enzymes existant dans les fractions particulières : la transaminase cystéine-acide α -cétoglutarique qui nécessite le PLP comme coenzyme [24] et qui donne de l'acide β -mercaptopyruvique, et la désulfurase de l'acide β -mercaptopyruvique [25, 26] qui ne nécessite pas le PLP. Le soufre formé par cette dernière réaction est réduit chimiquement en H_2S par la cystéine en excès dans le milieu. L'ensemble s'écrit donc ainsi :

- 1) $\text{HOOC} - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{CH}_2 - \text{SH} + \text{HOOC} - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH} \rightleftharpoons$
 $\text{HOOC} - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{SH} + \text{HOOC} - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$
- 2) $\text{HOOC} - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{SH} \rightarrow \text{S} + \text{HOOC} - \text{CO} - \text{CH}_3$
- 3) $\text{S} + 2 \text{R} - \text{SH} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{S} + \text{R} - \text{S} - \text{S} - \text{R}$

La mesure de la désulfuration de la cystéine est faite au moyen de fioles de Warburg à 2 ampoules latérales, selon une méthode voisine de celles décrites par THOMPSON et GUERRANT [27] et JOHNSON et coll. [9].

Chaque fiole contient, pour un volume total de 3,2 ml :

- dans le compartiment principal : un tampon phosphates (pH 7,3) en quantité telle que la concentration finale dans le milieu

soit 0,045 M ; une quantité convenable de préparation enzymatique (homogénat, surnageant ou culot), 0,1 ml d'une solution de sel de sodium de PLP à 1 mg/ml, éventuellement de l' α -cétoglutarate de sodium en quantité telle que la concentration finale soit $0,5 \cdot 10^{-2}$ M ;

- dans une ampoule latérale : 0,2 ml d'une solution neutralisée de chlorhydrate de L-cystéine préparée extemporanément dans l'eau distillée et telle que la concentration finale en substrat dans le milieu soit 10^{-2} M ;
- dans l'autre ampoule latérale : 0,2 ml d'une solution d'acide sulfurique 12 N ;
- dans le puits central : un morceau de papier Whatman n° 4 imprégné de 0,2 ml d'une solution d'acétate de zinc à 22 %.

Le milieu réactionnel est incubé pendant trente minutes à 37° en atmosphère d'azote. La réaction enzymatique est arrêtée par addition de l'acide sulfurique ; le milieu acidifié est maintenu pendant encore quinze minutes à 37° et toujours sous azote : l'hydrogène sulfuré se fixe sur le papier imprégné d'acétate de zinc. Ce papier est ensuite recueilli et plongé dans un Erlenmeyer contenant environ 10 ml d'eau, 1 ml d'acide chlorhydrique 6 N et très exactement 0,2 ml d'une solution d'iode N/10. Le puits central de la fiole est rincé avec de l'eau distillée et l'eau de lavage est versée dans l'Erlenmeyer. Après une minute d'agitation du papier dans le liquide, l'iode en excès est titrée par une solution de thiosulfate de sodium N/100 en présence d'empois d'amidon. Nous avons vérifié que, dans tous les cas, la mesure effectuée rend bien compte de la vitesse initiale de formation de l'hydrogène sulfuré.

Les résultats sont exprimés soit en QH_2S (μg de H_2S dégagé/mg de poids sec/heure) soit, pour certaines expériences, en μg de H_2S formé, dans des conditions définies, par un volume déterminé de chaque préparation enzymatique.

La production de H_2S par ce système résulte donc de l'intervention de deux enzymes dont le premier seulement nécessite le PLP comme coenzyme. Etant donné que nous limitons notre étude aux enzymes à PLP, il semblait plus logique et plus exact de déterminer directement l'activité de la transaminase, toutefois il nous a paru possible de mesurer de façon correcte l'activité de cette transaminase par la production de H_2S . En effet, nous avons vérifié que la désulfuration de l'acide β -mercaptopyruvique n'est pas le facteur limitant du phénomène. Ce contrôle a été fait au moyen d'analyse, par chromatographie sur papier, des acides cétoniques libres présents dans le milieu réactionnel sur lequel la production de H_2S est mesurée.

Nous avons constaté que, sur un chromatogramme développé dans le solvant butanol-acide formique-eau (75-15-10), puis révélé à l'o-phénylinediamine (solution à 0,05 % dans l'acide trichloracétique à 10 %), selon WIELAND et FISCHER [28], et examiné en lumière ultraviolette, il n'y a pas apparition d'acide β -mercaptopyruvique, ce qui indique que cette substance ne s'accumule pas dans le milieu, donc qu'elle est toujours désulfurée (les Rf des acides cétoniques qui nous intéressent dans le solvant indiqué sont : acide β -mercaptopyruvique 0,17, acide α -cétoglutarique 0,60, acide pyruvique 0,79).

5. *Mesure de la phosphorylase du glycogène dans le foie :*

L'activité de la phosphorylase hépatique est déterminée, dans les conditions décrites par SUTHERLAND et WOSILAIT [10], par la mesure de la vitesse de libération du phosphate inorganique à partir de glucose-1-phosphate en présence de glycogène ; ceci revient à mesurer l'activité de l'enzyme dans le sens de la synthèse du polysaccharide alors que, en particulier, d'après les résultats de CAHILL et coll. [29], il semble possible de relier le niveau de l'activité de la phosphorylase et la vitesse de dégradation du glycogène.

Le réactif de base est une solution de glucose-1-phosphate (0,036 M) ajustée à pH 6,1 avec HCl, contenant du glycogène (4,03 mg/ml), du fluorure de sodium (0,1 M) et de l'adénosine-5'-monophosphate ($1,4 \cdot 10^{-3}$ M). Ce réactif doit être conservé au réfrigérateur à -13° . On ajoute à 2,8 ml de ce réactif 0,2 ml d'enzyme (homogénat de foie préparé dans la solution de fluorure de sodium comme indiqué précédemment) à la température de la pièce. On prélève aussitôt 0,5 ml du mélange qui sont mis dans un tube contenant 0,5 ml d'une solution d'acide trichloracétique à 50 %. Le reste du mélange est placé à 37° pendant quinze minutes (SUTHERLAND et WOSILAIT limitent la durée de l'incubation à dix minutes, mais dans des travaux plus récents, EISENSTEIN [30, 31] poursuit la réaction pendant quinze minutes). Après ce temps, on prélève à nouveau 0,5 ml du mélange réactionnel qui sont également placés dans de l'acide trichloracétique. Les dosages de phosphate inorganique sont faits selon la méthode de FISKE et SUBBAROW [32] sur les deux échantillons après centrifugation et dilution convenable. Nous exprimons les résultats en mg de Pi libéré par g de foie frais en quinze minutes.

L'intérêt de la détermination de l'activité de la phosphorylase dans notre étude provient du fait que cet enzyme, au moins quand il est extrait du muscle, contient du phosphate de pyridoxal [33, 34] et que

la phosphorylase totale du muscle, c'est-à-dire la somme phosphorylase a + phosphorylase b, est fortement diminuée chez le rat carencé en vitamine B6 [35]; de plus, il a également été établi que la phosphorylase du foie est diminuée chez le rat privé de pyridoxine [31], ce phénomène étant cependant moins marqué que celui que produit la carence sur l'enzyme du muscle.

6. *Dosage des protéines :*

Il est effectué selon la méthode décrite par LOWRY et coll. [36].

CHAPITRE III

Dosage du phosphate de pyridoxal

Nous avons fait appel à une méthode très voisine de celle employée par GUNSALUS et SMITH [37], qui utilise l'apotyrosine décarboxylase existant dans des cellules de *Streptococcus faecalis*, souche R (ATCC 8043), cultivées sur milieu synthétique dépourvu de vitamine B₆, et qui est fondée sur le principe suivant : il existe une relation linéaire, dans des conditions définies, entre la teneur en PLP de l'échantillon à doser et la vitesse de décarboxylation de la tyrosine par ce micro-organisme. Cette méthode a été mise au point au laboratoire par J. LABOUESSE.

Le milieu de culture contient, par litre, 10 g d'hydrolysate acide de caséine, 10 g de glucose, 5 g de phosphate acide de potassium, 2 g d'acétate de sodium, 0,2 g de DL-alanine, 0,2 g de L-cystine, 0,1 g de L-tryptophane, 0,1 g de thioglycolate de sodium, 5 mg de sulfate d'adénine, 5 mg de chlorhydrate de guanine, 5 mg d'uracile, 5 mg d'acide nicotinique, 1 mg de riboflavine, 1 mg de panto-thénate de calcium, 2 μ g d'acide folique, 1 μ g de biotine et 5 ml d'une solution de sels préparée de la manière suivante : pour un volume de 250 ml, on dissout 10 g de SO_4Mg , 7 H_2O , 0,5 g de NaCl , 0,5 g de SO_4Fe , 7 H_2O , 0,5 g de SO_4Mn , 4 H_2O . Le pH de ce milieu est 7,2-7,3.

Après autoclavage, puis refroidissement, le milieu est inoculé par addition de 0,02 % d'une culture de *Streptococcus faecalis* faite sur milieu complet à base de tryptone et d'extrait de levure. La culture est poursuivie pendant environ vingt heures à 37°, en anaérobiose, ce qui, d'après les observations de J. LABOUESSE, favorise la formation de l'apoenzyme. Les cellules sont ensuite récoltées par centrifugation, lavées par une solution physiologique, puis lyophilisées. Elles sont conservées, à froid, dans un dessiccateur contenant de la Driërite.

La mesure de la décarboxylation de la tyrosine est faite par la méthode manométrique de Warburg, à 28°, en atmosphère d'azote. Chaque fiole contient, pour un volume total de 3,1 ml :

- dans le compartiment principal : 1 ml de tampon acétate pH 5,5, 0,2 M, un volume déterminé de l'échantillon à doser, environ 1 mg d'une suspension de cellules de *Streptococcus faecalis* dans le tampon acétate et de l'eau distillée ;
- dans l'ampoule latérale : 0,5 ml d'une suspension de tyrosine 0,03 M.

L'échantillon à doser est préparé de la manière suivante : 2 ml d'homogénat de foie (ou de surnageant, ou de culot) sont additionnés de 2 gouttes de soude N et de 2 ml d'eau ; le tout est placé au bain-marie bouillant pendant dix minutes ; après refroidissement, on filtre sur coton de verre et le filtrat est dilué de manière convenable (généralement 100 à 200 fois).

Une courbe étalon de décarboxylation de la tyrosine est établie pour chaque expérience au moyen d'une solution connue de phosphate de pyridoxal. Cette méthode est spécifique pour le PLP et permet de déterminer de 2 à 25 μg de PLP.

CHAPITRE IV

Dosage de l'adénosine triphosphate

Ces déterminations ont été faites par D. GAUTHERON au moyen d'une méthode décrite par STREHLER et TOTTER [38] et dont le principe est fondé sur le fait suivant : il existe une relation linéaire entre la quantité d'ATP et la luminescence produite, en présence de cette substance, par un extrait d'organes lumineux de *Photinus pyralis*. Cet extrait est préparé par broyage, à froid, des organes lumineux en présence d'un volume convenable de tampon arséniate de sodium pH 7,4 M/10. Après centrifugation, toujours à froid, on ajoute au surnageant une certaine quantité de SO_4Mg , 7 H_2O (100 mg pour un volume initial de tampon de 10 ml). La préparation est conservée à la glacière et reste, dans ces conditions, active pendant plusieurs jours.

L'échantillon à doser est préparé de la manière suivante : un poids déterminé de foie (environ 200 mg), prélevé aussi rapidement que possible après le sacrifice de l'animal, est placé sur de la glace, pesé et immédiatement broyé dans un appareil Virtis, en présence de 6 ml d'une solution d'acide trichloracétique à 10 %. Après centrifugation, toujours à froid, l'acide trichloracétique est extrait par addition de 6 ml d'éther refroidi, l'opération est répétée 4 fois. La couche aqueuse est recueillie, placée dans un tube plongé dans un bain de glace, et l'éther résiduel est chassé par un courant d'air comprimé.

Pour la mesure de la luminescence, un volume adéquat de l'extrait d'organes lumineux, additionné de tampon arséniate, est placé dans une cuve à faces parallèles, en présence d'une certaine quantité de l'échantillon à doser (le volume final est toujours 1 ml). La cuve est introduite dans l'appareil de mesure qui comporte essentiellement une cellule photoélectrique reliée à un amplificateur et à un galvanomètre. La déviation du galvanomètre est notée et rapportée sur une courbe étalon établie avec une solution standard d'ATP.

REMARQUES SUR L'EXPRESSION DES RÉSULTATS

Nous avons déjà indiqué que les activités enzymatiques sont exprimées, pour les décarboxylations de l'acide glutamique et de l'ACS en QCO_2 , pour la désulfuration de la cystéine en QH_2S lorsque les mesures sont faites sur l'homogénat, et en μg de H_2S formé par un volume déterminé de chaque préparation enzymatique lorsque la désulfuration est mesurée respectivement sur la fraction non particulière et sur les fractions particulières du foie. Cependant, dans quelques séries d'expériences, le dosage des protéines totales a été systématiquement effectué d'une part sur le surnageant (fraction non particulière), d'autre part sur le culot (fractions particulières) provenant de foies de rats mâles normaux, de rats mâles rendus thyrotoxiques par des injections quotidiennes de 500 μg de DL-thyroxine pendant quinze jours, de rats femelles normales et de rats femelles thyroïdectomisées depuis deux à trois semaines. Les résultats obtenus sont les suivants : il n'y a aucune variation des quantités de protéine par gramme de foie frais chez l'animal thyrotoxique par rapport à celles existant chez l'animal normal ; on trouve de l'ordre de 28 mg de protéine dans le surnageant et de 54 mg dans les fractions particulières. Chez la femelle thyroïdectomisée, il y a une très légère diminution des protéines du surnageant et du culot ; on trouve respectivement, pour le surnageant, 24 mg chez la femelle normale et 18 mg chez la femelle thyroïdectomisée, pour le culot, les chiffres correspondants sont 46 mg et 40 mg.

Pour la phosphorylase, les dosages de protéine ont été faits dans tous les cas sur l'homogénat préparé dans la solution de fluorure ; de ces dosages, il ressort que les quantités de protéine par gramme de foie sont peu différentes quel que soit l'état thyroïdien de l'animal. En effet, on trouve 71 mg pour le rat mâle normal, 65 mg pour le rat thyroïdectomisé, 76 mg pour le rat femelle normal et 82 mg pour le rat thyrotoxique après six jours de traitement ; il y a donc dans ce cas une légère augmentation de la quantité de protéine.

**Modifications observées sur les enzymes
à la suite des traitements hormonaux**

CHAPITRE I

Influence d'injections de fortes doses de DL-thyroxine

Dans une première série d'expériences, plusieurs doses de DL-thyroxine ont été injectées pendant quinze jours à des rats de poids divers, ceci afin de déterminer des conditions provoquant des modifications significatives des activités enzymatiques. Les *Tableaux I* et *II* rendent compte de ces essais au cours desquels ont été mesurées seulement la décarboxylation de l'acide glutamique dans le cerveau (*Tableau I*) et la décarboxylation de l'ACS dans le foie (*Tableau II*).

D'après les chiffres du *Tableau I*, l'on constate que, aussi bien chez l'animal normal que chez l'animal thyrotoxique, la vitesse de décarboxylation de l'acide glutamique est toujours plus grande lorsque la mesure est faite en présence de PLP ajouté *in vitro*; ce fait a déjà été signalé à plusieurs reprises [12, 14, 15]. L'on constate également que les injections de thyroxine, quelles que soient les quantités d'hormone employées, ne modifient pas l'activité de l'enzyme.

Enfin, d'après les chiffres du *Tableau II*, il apparaît que :

- chez les animaux témoins, le niveau de la décarboxylation de l'ACS est singulièrement plus faible chez la femelle que chez le mâle, et l'ovariectomie, effectuée au moins trois semaines avant les dosages, conduit à une élévation significative de ce niveau; ceci est en accord avec des observations que nous avons faites précédemment [39, 40];
- les injections de thyroxine provoquent une diminution de l'activité de la décarboxylase, mais il est nécessaire d'employer des doses assez élevées de thyroxine, c'est-à-dire au moins 70 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de poids d'animal, pour que cette diminution soit significative. Des doses inférieures (10 à 100 $\mu\text{g}/\text{jour}$ injectées à des rats d'environ 200-250 g) n'ont aucune action; par contre, des doses nettement plus fortes (500 $\mu\text{g}/\text{jour}$) sont, dans tous les cas, très actives;

TABLEAU I

Influence d'injections de diverses doses de DL-Thyroxine pendant quinze jours
sur la décarboxylation de l'acide glutamique dans le cerveau du rat

Conditions des animaux; poids au début des injections	Dose quotidienne de thyroxine (μ g)	Rats témoins			Rats injectés		
		Nombre	Q_{CO_2}		Nombre	Q_{CO_2}	
			- PLP	+ PLP		- PLP	+ PLP
Mâles 250 g	10	4	$2,34 \pm 0,26^*$	$4,34 \pm 0,12$	4	$2,55 \pm 0,33$	$4,30 \pm 0,43$
Mâles 70 g	100	7	$2,03 \pm 0,08$	$4,76 \pm 0,05$	7	$1,91 \pm 0,18$	$4,82 \pm 0,13$
Mâles 220 g	500	6	$2,20 \pm 0,16$	$4,56 \pm 0,05$	6	$2,03 \pm 0,09$	$4,85 \pm 0,17$

-- PLP = mesures faites sans addition de phosphate de pyridoxal.

+ PLP = mesures faites en présence de phosphate de pyridoxal ajouté *in vitro*.

* = déviation standard de la moyenne.

TABLEAU II

Influence d'injections de diverses doses de DL-Thyroxine pendant quinze jours sur la décarboxylation de l'ACS dans le foie du rat

Conditions des animaux; poids au début des injections	Dose quotidienne de thyroxine (µg)	Rats témoins			Rats injectés			P**	Inhibition ARD %
		Nombre	Q _{CO₂}		Nombre	Q _{CO₂}			
			- PLP	+ PLP		- PLP	+ PLP		
Mâles 250 g	10	6	6,39 ± 0,50*	6,56 ± 0,52	6	6,32 ± 0,51	6,67 ± 0,53	-	-
Mâles 70 g	50	8	8,26 ± 0,74	8,58 ± 0,68	8	3,27 ± 0,40	3,48 ± 0,40	<0,01	60
	100				8	2,28 ± 0,20	2,38 ± 0,20	<0,01	72
Mâles 220 g	100	6	6,81 ± 1,23	7,31 ± 1,25	7	5,32 ± 0,78	5,69 ± 0,78	>0,05	-
	500				7	1,93 ± 0,21	2,18 ± 0,23	<0,01	71
Femelles 160 g	500	8	1,70 ± 0,19	1,64 ± 0,20	8	0,95 ± 0,18	0,94 ± 0,16	0,01<P <0,05	43
Femelles ova- riectomisées 200 g	500	8	2,84 ± 0,53	3,08 ± 0,54	8	1,23 ± 0,10	1,24 ± 0,09	<0,01	58

* = déviation standard de la moyenne.

**P = facteur de probabilité.

*** = moyenne des inhibitions obtenues en absence et en présence de phosphate de pyridoxal.

mesures faites sans addition de phosphate de pyridoxal.

mesures faites en présence de phosphate de pyridoxal ajouté *in vitro*.

-- PLP =

+ PLP =

— lorsqu'il y a eu diminution de l'activité enzymatique à la suite du traitement par la thyroxine, il n'est pas possible de restaurer, par addition *in vitro* de PLP aux homogénats de foie, un niveau de décarboxylation voisin de celui existant chez l'animal normal.

Dans la suite de nos expériences, nous avons généralement injecté la thyroxine à raison de 500 μ g/jour, pendant dix à quinze jours, à des rats pesant de 130 à 180 g. En particulier, nous avons utilisé de telles conditions pour déterminer l'influence de la thyroxine sur la production d'hydrogène sulfuré à partir de la cystéine par un homogénat de foie, ce qui revient à mesurer les modifications d'un phénomène global résultant de l'intervention de l'un et l'autre des systèmes de formation d'hydrogène sulfuré, la désulfurase soluble présente dans la fraction non particulaire et l'ensemble transaminase de la cystéine et désulfurase de l'acide β -mercaptopyruvique qui se trouve dans les fractions particulières. Le *Tableau III* groupe les résultats obtenus.

On constate, d'après les chiffres de ce tableau, qu'il y a, à la suite des injections de thyroxine, une diminution significative de la production d'hydrogène sulfuré mesurée à partir de cystéine seule ou de cystéine + PLP ou de cystéine + acide α -cétoglutarique, mais si la détermination de la désulfuration est faite en présence de cystéine et des deux cofacteurs, la diminution d'activité n'est plus significative, ce qui revient à dire que l'addition des deux cofacteurs restaure en grande partie le niveau de la désulfuration.

Nous avons alors déterminé, sur un même groupe d'animaux, l'influence de la thyroxine sur la décarboxylation de l'ACS et sur la désulfuration de la cystéine et déterminé également l'influence, sur ces deux réactions, de l'addition des cofacteurs aux homogénats de foies de rats thyrotoxiques. Les résultats sont groupés dans la *figure 1*.

Ce schéma met en évidence de manière particulièrement nette l'action inhibitrice des injections de thyroxine sur la décarboxylation de l'ACS et sur la désulfuration de la cystéine ; il montre également que l'addition de PLP ne permet pas de restaurer le niveau de la décarboxylation de l'ACS, alors que l'addition des deux cofacteurs (PLP et acide α -cétoglutarique) redonne un niveau de désulfuration pratiquement égal à celui manifesté par l'animal normal. Ce dernier résultat fait apparaître une différence de comportement entre la décarboxylase de l'ACS et l'un ou l'autre (ou les deux) systèmes de désulfuration.

TABLEAU III

Influence d'injections
de 500 μ g de DL-Thyroxine par jour, pendant quinze jours,
sur la production d'hydrogène sulfuré à partir de L-Cystéine
par le foie du rat

	Témoins	Injectés	P**	Modifications par la thyroxine (%)
{ Q _{H₂S}	cystéine	0,32 $\pm$ 0,02	0,001 < P < 0,01	- 52
	cystéine + PLP	1,65 $\pm$ 0,17	P < 0,001	- 59
	cystéine + α cétoGL.	2,02 $\pm$ 0,15	0,01 < P < 0,02	- 23
	cystéine + PLP + α cétoGL.	2,05 $\pm$ 0,20	P $\geq$ 0,05	(- 19)

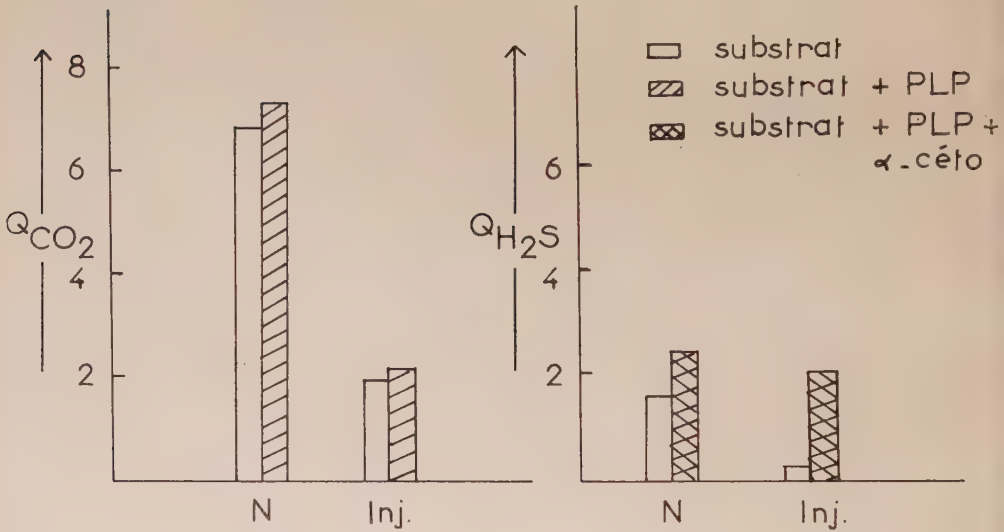
* = déviation standard de la moyenne.

**P = facteur de probabilité.

Le chiffre entre parenthèses correspond à une
différence statistiquement non significative.
Les animaux utilisés (6 témoins et 6 injectés) sont
des rats mâles d'environ 150 g.

FIGURE 1

Influence d'injections de 500 μg de DL-Thyroxine par jour pendant quinze jours, sur la décarboxylation de l'ACS et la désulfuration de la cystéine par le foie du rat mâle



N: rats normaux — Inj.: rats injectés de thyroxine
Chaque colonne représente la moyenne des Q_{CO_2} ou $Q_{\text{H}_2\text{S}}$
mesurés sur 7 à 8 animaux

Il convenait donc de préciser les répercussions des injections de thyroxine et sur la désulfurase soluble présente dans le surnageant et sur les enzymes désulfurants existant dans les fractions particulières. Le *Tableau IV* présente les résultats obtenus lors de ces déterminations.

On constate que, dans le culot (colonne *B*), c'est-à-dire dans les fractions particulières, les enzymes de désulfuration (transaminase L-cystéine-acide α -cétoglutarique et désulfurase de l'acide β -mercapto-pyruvique) conservent, chez l'animal thyrotoxique, lorsque leurs activités sont mesurées en présence de PLP et d'acide α -cétoglutarique, une capacité désulfurante très voisine de celle manifestée par une même préparation de foie de rat normal. Par contre, dans le surnageant (colonnes *C*), la désulfurase soluble est diminuée de façon considérable et le PLP ne restaure qu'une très faible partie de l'activité enzymatique observée, dans les mêmes conditions, chez l'animal non thyrotoxique. Cette diminution importante rend compte du phénomène observé dans l'homogénat (colonne *A*) où l'on constate également une diminution de la désulfuration globale. On peut donc souligner la différence importante qui existe entre les deux systèmes de désulfuration lorsqu'ils sont extraits de foies d'animaux soumis à un traitement par la thyroxine : les enzymes des fractions particulières ne semblent pas affectés par un tel traitement et, tout au moins lorsque leur détermination est faite en présence des cofacteurs, leur activité n'est pas diminuée : au contraire, la désulfurase soluble inhibée par les injections de thyroxine ne peut pas être réactivée par addition de phosphate de pyridoxal, elle manifeste donc un comportement analogue à celui de la décarboxylase de l'ACS qui est, elle aussi, présente dans le surnageant soluble.

On pouvait alors se demander si la thyroxine agit directement sur ces enzymes. L'influence de l'addition, *in vitro*, de thyroxine et de L-triiodothyronine sur les activités enzymatiques a donc été examinée. Employées à des concentrations finales de 10^{-7} à 10^{-4} M, ni la thyroxine ni la 3,3'-5-triiodothyronine n'inhibent, *in vitro*, la décarboxylation de l'ACS par une préparation de foie de rat normal. Il apparaît ainsi que dans le cas de cet enzyme au moins, l'effet inhibiteur de la thyroxine n'est pas direct mais relève de mécanismes complexes.

Les résultats obtenus au cours de mesures de l'activité de la phosphorylase du glycogène dans le foie du rat normal et dans le foie du rat thyrotoxique sont indiqués dans le *Tableau V*.

Ces résultats font apparaître une suppression quasi totale de l'activité de la phosphorylase chez le rat traité pendant six jours à la thyroxine. Quelques déterminations de l'activité de l'enzyme ont

TABLEAU IV

Influence d'injections
de 500 μg de DL-Thyroxine par jour pendant dix jours
sur les deux systèmes de désulfuration de la cystéine
du foie du rat mâle

	A Homogénat IV	B Culot IV
N (8)	189 ± 19	159 ± 21
Inj. (8)	112 ± 12	141 ± 11
	$P = 0,01$	$P \gg 0,05$
C Surnageant		
	I	II
N (8)	$57 \pm 3,5$	127 ± 18
Inj. (8)	$16 \pm 2,5$	38 ± 5
	$P \ll 0,001$	$0,001 < P < 0,01$

N = rats normaux.

Inj. = rats injectés de thyroxine.

Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre d'animaux.

I = détermination faite en présence de cystéine seule.

II = détermination faite en présence de cystéine + PLP.

III = détermination faite en présence de cystéine + acide α -cétoglutarique.

IV = détermination faite en présence de cystéine + PLP + acide α -cétoglutarique.

Les résultats sont exprimés en μg de H_2S formés en 30 minutes par 2 ml de chaque préparation enzymatique.

TABLEAU V

Influence d'injections
de 500 μ g de DL-Thyroxine par jour, pendant six jours
sur la phosphorylase du glycogène du foie

	mg P _i /g foie frais/15 minutes	
Témoins (8)	10,80 - 8,94 - 7,92 6,48 - 4,80 - 9,84 5,58 - 10,02	moyenne = 8,04
Injectés (8)	0,48 - 0 - 0 0 - 0 - 0,48 0 - 0	moyenne = 0,12

Les animaux utilisés sont des rats mâles pesant environ 150 g.
Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'animaux.

également été faites chez des rats traités à la thyroxine pendant un temps plus court, et elles ont permis de constater que l'enzyme, chez le rat mâle au moins, perd très rapidement son activité, puisque celle-ci est diminuée d'environ 50 %, quarante-huit heures après la première injection d'hormone, et disparaît dès le quatrième jour du traitement.

Nous reviendrons, dans la discussion de l'ensemble du travail, sur les causes possibles de ce phénomène. Signalons seulement ici que, d'après SUTHERLAND et WOSILAIT [10], la phosphorylase du glycogène est présente dans la fraction non particulaire du foie.

CHAPITRE II

Répercussion de la thyroïdectomie

Les effets inhibiteurs indirects de la thyrotoxicose sur les enzymes du surnageant étant clairement établis, il apparaissait nécessaire de déterminer les répercussions de la thyroïdectomie sur ces enzymes et également sur ceux des fractions particulières.

Toutes les expériences qui seront rapportées ici ont été faites avec des rats femelles et ceci pour la raison suivante : chez le rat mâle, trois semaines après l'ablation de la glande thyroïde, la décarboxylation de l'ACS mesurée sur un homogénat de foie n'est guère modifiée par rapport à celle de l'animal témoin, mais il apparaît que l'effet global de la thyroïdectomie est beaucoup plus important chez le rat mâle que chez le rat femelle, la diminution du poids total de l'animal ainsi que la diminution du poids du foie sont nettement plus considérables chez le mâle et il nous a paru difficile d'utiliser un animal dont le métabolisme général se montre à ce point perturbé. Il serait hors de propos ici de discuter abondamment de cette différence de comportement entre l'animal mâle et l'animal femelle sous l'influence de la thyroïdectomie ; toutefois, il semble nécessaire de donner quelques précisions. L'on sait [39, 40] que, dans le cas d'animaux adultes, l'activité de la décarboxylase de l'ACS est beaucoup plus forte chez le rat mâle que chez le rat femelle à cause d'une influence inhibitrice de l'œstradiol chez ce dernier animal, mais nous avons observé, et ces résultats sont rapportés dans le *Tableau II*, que l'action inhibitrice de la thyroxine se manifeste chez la femelle et même chez la femelle ovariectomisée ; de plus, nous avons contrôlé [41], en utilisant des rats femelles à la fois ovariectomisés et thyroïdectomisés, que les actions inhibitrices de la thyroxine et de l'œstradiol sont indépendantes l'une de l'autre.

Le schéma 2 montre l'influence de la thyroïdectomie sur la décarboxylation de l'ACS et sur la désulfuration de la cystéine par un homogénat de foie.

D'après ce schéma, chez l'animal thyroïdectomisé, les deux activités enzymatiques sont augmentées de manière très significative puisqu'elles sont pratiquement doublées dans toutes les conditions de mesure, c'est-à-dire avec ou sans addition de cofacteurs.

Dans une autre série d'expériences, l'influence de la thyroïdectomie a été déterminée sur l'un et l'autre des systèmes enzymatiques de désulfuration et le *Tableau VI* rend compte de ces essais.

D'après les chiffres de ce tableau, il apparaît que la thyroïdectomie augmente de manière considérable aussi bien le niveau de la désulfurase soluble que celui des enzymes désulfurants présents dans les fractions particulières.

Nous avons également déterminé l'influence de la thyroïdectomie sur la décarboxylase de l'acide glutamique du cerveau, les résultats obtenus au cours de cette étude sont présentés dans le *Tableau VII*. D'après ces résultats, il est manifeste que la thyroïdectomie n'affecte en rien la décarboxylase de l'acide glutamique dans le cerveau. D'autre part, si l'on rapproche les chiffres du *Tableau VII* de ceux indiqués dans le *Tableau I*, il apparaît qu'il n'y a aucune différence entre l'activité de décarboxylation de l'acide glutamique dans le cerveau de rat mâle normal et du rat femelle normal. Un tel résultat avait déjà été observé en utilisant comme substrat aussi bien l'acide glutamique que l'acide cystéinesulfonique [39].

Enfin, nous avons constaté également que la thyroïdectomie ne modifie pas l'activité de la phosphorylase dans le foie, ces résultats sont consignés dans le *Tableau VIII*.

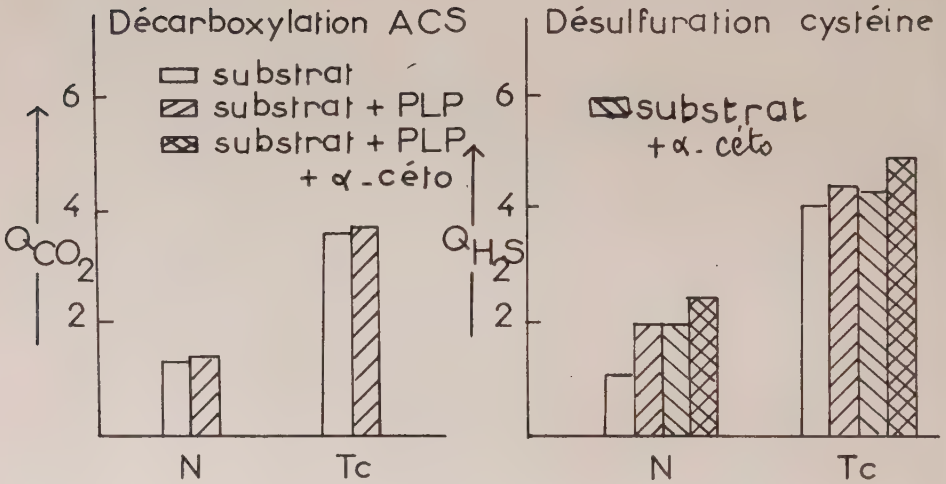
Si l'on essaye maintenant de regrouper les divers résultats obtenus jusqu'ici, on arrive aux conclusions suivantes :

- l'enzyme étudié dans le cerveau, c'est-à-dire la décarboxylase de l'acide glutamique, n'est sensible ni aux injections de thyroxine, ni à la thyroïdectomie ;
- dans le foie, chez l'animal thyrotoxique, la phosphorylase du glycogène a disparu, les activités de la décarboxylase de l'ACS et de la désulfurase « soluble » sont très fortement diminuées, tandis que la transaminase de la cystéine n'est pas touchée ;
- toujours dans le foie, chez l'animal thyroïdectomisé, la phosphorylase garde la même activité que chez l'animal intact, alors que la décarboxylase de l'ACS, la désulfurase et la transaminase présentent des activités plus grandes.

Il apparaît ainsi que les hormones thyroïdiennes n'ont aucune action sur l'enzyme du cerveau, mais manifestent une influence

FIGURE 2

Influence de la thyroïdectomie sur la décarboxylation de l'ACS
et la désulfuration de la cystéine par le foie du rat femelle



N: rats normaux — Tc: rats thyroïdectomisés depuis trois semaines.

Chaque colonne représente la moyenne des Q_{CO_2} ou Q_{H_2S}
mesurés sur 7 à 8 animaux

TABLEAU VI

Influence de la thyroïdectomie
sur les deux systèmes de désulfuration de la cystéine
du foie du rat femelle

A Homogénat	I	II	III	IV
N (7)	71 $\pm$ 7*	131 $\pm$ 7	124 $\pm$ 5	183 $\pm$ 5
Th (7)	182 $\pm$ 14	285 $\pm$ 19	232 $\pm$ 14	283 $\pm$ 22
B Culot				
N (7)	33 $\pm$ 3	66 $\pm$ 8	104 $\pm$ 11	134 $\pm$ 4
Th (7)	69 $\pm$ 5	135 $\pm$ 9	155 $\pm$ 8	199 $\pm$ 6
C Surnageant				
N (7)	61 $\pm$ 7	103 $\pm$ 7	73 $\pm$ 6	110 $\pm$ 5
Th (7)	125 $\pm$ 6	182 $\pm$ 18	134 $\pm$ 10	188 $\pm$ 12

N = rats normaux.

Tc = rats thyroïdectomisés trois semaines avant le dosage.

Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre d'animaux.

I = détermination faite en présence de cystéine seule.

II = détermination faite en présence de cystéine + PLP.

III = détermination faite en présence de cystéine + acide α -cétoglutarique.

IV = détermination faite en présence de cystéine + PLP + acide α -cétoglutarique.

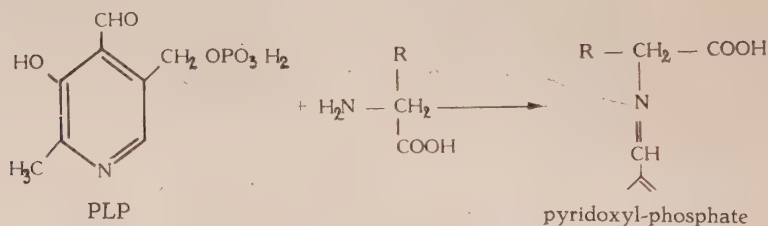
Les résultats sont exprimés en μg de H_2S formés en trente minutes par 2 ml de chaque préparation enzymatique.

* = déviation standard de la moyenne.

importante sur les activités enzymatiques étudiées dans le foie, activités qui sont d'une part fortement diminuées (décarboxylase, désulfurase) ou même supprimées (phosphorylase) chez l'animal thyrotoxique, et d'autre part non modifiées (phosphorylase) ou augmentées de manière considérable (décarboxylase, désulfurase, transaminase) chez l'animal thyroïdectomisé.

Nos recherches ultérieures ont donc été limitées aux enzymes présents dans le foie, à l'exclusion cependant de la phosphorylase ; il nous semble important de souligner que, parmi ces enzymes, la phosphorylase doit être considérée de façon un peu particulière : en effet, si cet enzyme contient bien du phosphate de pyridoxal, il apparaît extrêmement vraisemblable que cette substance ne joue pas, dans la phosphorylase, le rôle de coenzyme qu'elle manifeste aussi bien pour la décarboxylation de l'ACS que pour la désulfuration ou la transamination de la cystéine. Cette affirmation nécessite d'être justifiée, d'autant plus que tout récemment encore le PLP était considéré [31] comme coenzyme pour la phosphorylase. Nous allons résumer rapidement les faits permettant d'aboutir à une telle conclusion.

A la suite de très nombreuses recherches, un mécanisme général [42, 43] a pu être établi pour les réactions catalysées par les enzymes à PLP. Dans ce mécanisme, le groupement formyle du PLP joue un rôle essentiel pour la catalyse, puisqu'il permet la formation d'une base de Schiff (imine substituée) entre le pyridoxal phosphate et le groupement amine primaire du substrat.



La formation de cette base de Schiff provoque la création d'un système conjugué de doubles liaisons qui permet les divers déplacements électromériques conduisant aux réactions de transamination, de α -décarboxylation et d'élimination des substituants en $-\beta$ ou $-\gamma$ (cette dernière réaction est représentative de la dégradation catalysée par la désulfurase soluble, c'est-à-dire par la cystathionase). Or, MATSUO et GREENBERG [23], étudiant précisément la cystathionase cristallisée, ont montré que si l'on traite par l'hydruire mixte de sodium et de bore (NaBH_4) l'enzyme pourvu de son coenzyme,

TABLEAU VII

Influence de la thyroïdectomie
sur la décarboxylation de l'acide glutamique dans le cerveau du rat

Rats témoins (6)		Rats thyroïdectomisés (6)	
Q_{CO_2}		Q_{CO_2}	
- PLP	+ PLP	- PLP	+ PLP
$2,18 \pm 0,14$	$4,59 \pm 0,17$	$2,19 \pm 0,09$	$4,39 \pm 0,15$

Les animaux utilisés sont des rats femelles pesant environ 160 g au début de l'expérience. La thyroïdectomie ne modifie pas le poids du cerveau (1,26 g chez les rats normaux ; 1,25 g chez les rats thyroïdectomisés).

TABLEAU VIII

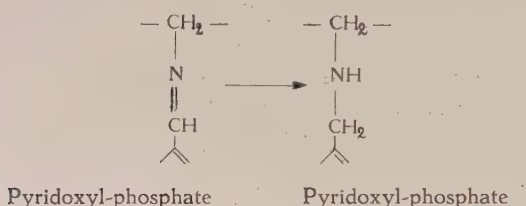
Influence de la thyroïdectomie
sur la phosphorylase du glycogène du foie

	mg P_i /g foie frais/15 minutes	
Témoins (11)	6,00 - 8,16 - 5,76 - 5,76 7,86 - 11,46 - 9,54 - 8,76 10,92 - 10,80 - 6,96	moyenne = 8,36
Thyroïdec- tomisés (9)	4,56 - 4,98 - 7,86 - 7,80 9,54 - 10,02 - 10,80 - 7,92 7,98	moyenne = 7,94

Les animaux utilisés sont des rats femelles d'environ 120 g. La thyroïdectomie a été effectuée quinze jours avant les dosages.
Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'animaux.

il y a réduction, ce qui entraîne des modifications importantes des spectres d'absorption, et que l'enzyme réduit ne possède plus qu'une très faible activité enzymatique. D'autre part, le groupement prosthétique réduit dans ces conditions est beaucoup plus fortement lié à la protéine que ne l'était le PLP.

Dans l'enzyme non réduit, le groupement formyle du PLP forme avec certains groupements aminés libérés de la protéine, une base de Schiff très labile qui, en particulier, est dissociée par l'addition du substrat de l'enzyme. La réduction par l'hydrure mixte donne un enzyme inactif dont le coenzyme est fortement fixé à la protéine, parce qu'il y a eu formation d'une amine substituée obtenue par saturation de la double liaison de l'imine.



Cette structure amine possède une plus grande stabilité que l'imine et ne permet plus la fixation du substrat.

Par contre, ce même traitement à l'hydrure mixte de sodium et de bore, appliqué à la phosphorylase cristallisée du muscle, donne un enzyme [44] qui conserve toute son activité de phosphorylase, ce qui a amené FISCHER et coll. [44] à poser le problème du rôle du PLP dans cet enzyme et à conclure que le PLP participait à l'architecture de la molécule de phosphorylase ; ces mêmes auteurs [44, 45] ont établi que les 4 résidus pyridoxal phosphate sont liés à la phosphorylase a par le groupe ϵ -aminé libre de l'unique résidu lysine de chacune des 4 sub-unités de la molécule d'enzyme.

CHAPITRE III

Influence d'injections de doses physiologiques de DL-thyroxine

Etant donné les fortes doses de thyroxine injectées dans les expériences précédentes, on pouvait se demander si cette action des hormones thyroïdiennes reflète vraiment une régulation physiologique de l'activité de ces enzymes par ces hormones. Nous avons recherché alors s'il est possible de modifier les niveaux des activités enzymatiques des rats thyroïdectomisés en injectant à ces animaux des doses de thyroxine voisines des doses physiologiques. La *figure 3* résume les résultats obtenus au cours de ces essais.

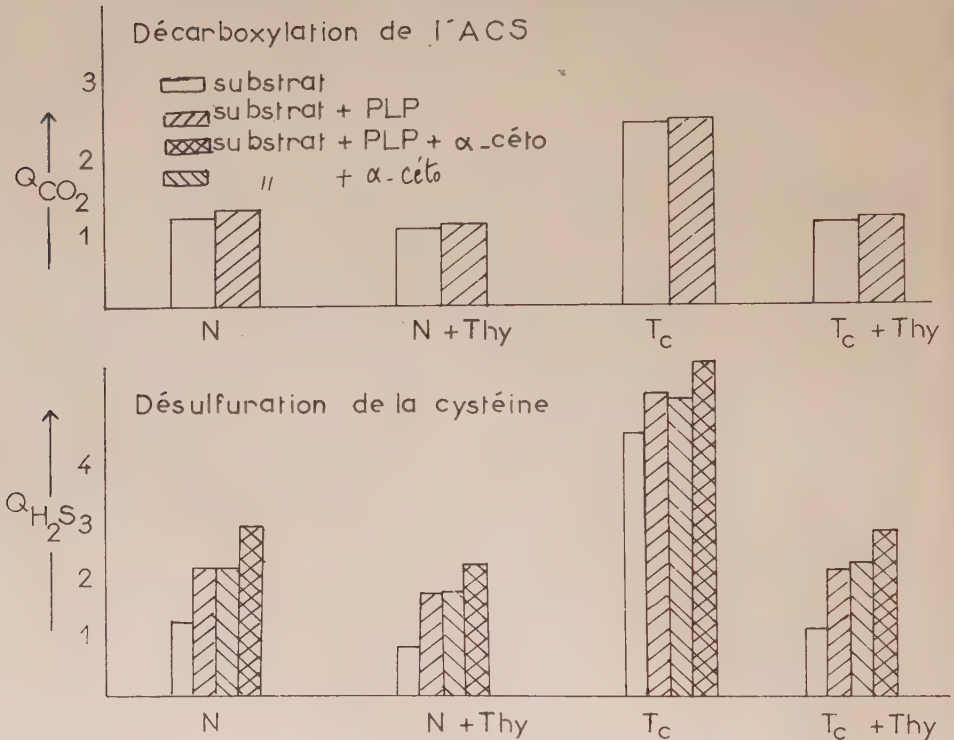
Sur ce schéma, on constate essentiellement que :

- des doses de thyroxine voisines des doses physiologiques (10 μ g de DL-thyroxine/jour) injectées à l'animal normal n'ont pratiquement aucune action sur les activités enzymatiques ;
- par contre, ces mêmes doses injectées pendant quinze jours à des rats thyroïdectomisés provoquent une très nette diminution des activités enzymatiques qui reviennent à des niveaux extrêmement proches de ceux présentés par les animaux normaux.

Cet ensemble de résultats conduisait à souligner l'importance de l'état thyroïdien de l'animal pour les activités des enzymes à phosphate de pyridoxal et permettait de conclure, de manière indiscutable, à l'existence d'un contrôle physiologique des activités enzymatiques considérées par les hormones thyroïdiennes ; il devenait alors intéressant de rechercher par quels mécanismes cette régulation est effectuée. Les expériences faites dans ce sens sont décrites dans la troisième partie de ce mémoire.

FIGURE 3

Influence d'injections
de 10 μ g de DL-Thyroxine par jour, pendant quinze jours,
sur les activités enzymatiques du foie du rat normal
et du rat thyroïdectomisé



N: rats normaux; N + Thy: rats normaux injectés de thyroxine; T: rats thyroïdectomisés trois semaines avant les dosages; T_c + Thy: rats thyroïdectomisés trois semaines avant les dosages et injectés de thyroxine pendant les quinze derniers jours.

Chaque colonne représente la moyenne des Q_{CO_2} ou Q_{H_2S} mesurés sur 7 à 8 animaux

Troisième partie

**Recherches effectuées en vue de déterminer
le mécanisme d'action des hormones thyroïdiennes
sur les enzymes à phosphate de pyridoxal**

Etant donné que les enzymes examinés présentent comme seul point commun immédiatement apparent le fait de nécessiter tous le phosphate de pyridoxal comme coenzyme, la première hypothèse que nous avons envisagée est celle d'une influence des hormones thyroïdiennes sur ces enzymes par l'intermédiaire d'une action au niveau de leur coenzyme. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons entrepris deux types d'expériences ; d'une part, nous avons étudié parallèlement le comportement de ces enzymes lors d'injections de thyroxine et lors d'une carence en vitamine B6, puisqu'il semblait possible de penser que le traitement par la thyroxine devait provoquer, sur ces enzymes, des effets analogues à ceux que l'on peut observer en cas de carence en pyridoxine ; d'autre part, nous avons dosé le phosphate de pyridoxal dans le foie du rat normal, du rat thyrotoxique et du rat thyroïdectomisé.

CHAPITRE I

Déterminations, en fonction du temps de traitement, de l'activité de décarboxylation de l'ACS et de désulfuration de la cystéine dans le foie du rat thyrotoxique et dans le foie du rat soumis à un régime carencé en vitamine B₆

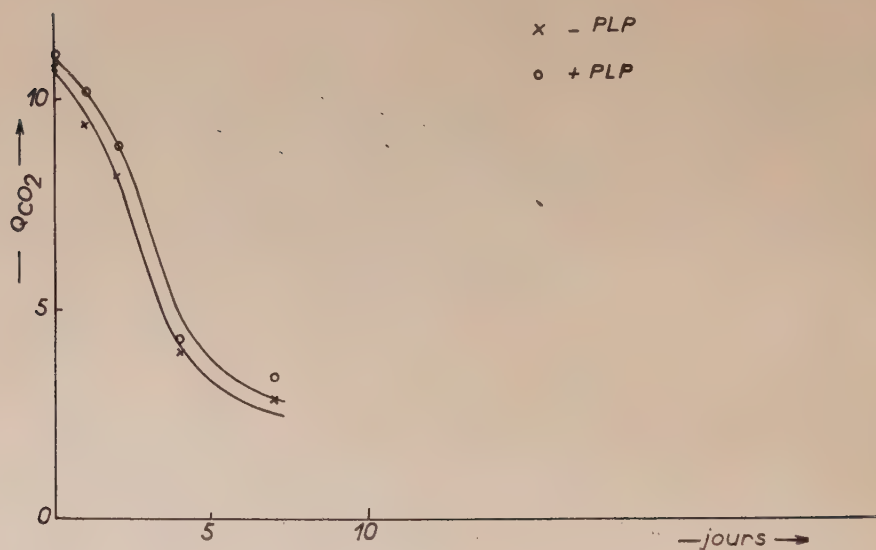
Ces expériences ont été effectuées dans des conditions aussi rigoureuses que possible, c'est-à-dire sur un lot d'animaux extrêmement homogène comme provenance, âge et poids. Un certain nombre de ces animaux a été soumis à des injections de thyroxine, tandis que les autres recevaient un régime synthétique dépourvu de vitamine B₆. La *figure 4* rend compte des résultats obtenus sur la décarboxylase de l'ACS au cours de ces déterminations.

On constate, sur cette figure, que l'enzyme se comporte de manière analogue sous l'influence de l'un et l'autre traitements, c'est-à-dire que, aussi bien chez le rat thyrotoxique que chez le rat carencé en pyridoxine, il y a rapidement diminution importante de l'activité enzymatique et que l'addition de phosphate de pyridoxal aux homogénats de foie ne restaure pas un niveau normal de décarboxylation. Un tel résultat est en accord à la fois avec ce qui a été observé chez l'animal thyrotoxique dans les recherches décrites ici, et avec des constatations faites précédemment [46] au cours d'une étude des répercussions d'une carence en vitamine B₆ sur la décarboxylase de l'ACS.

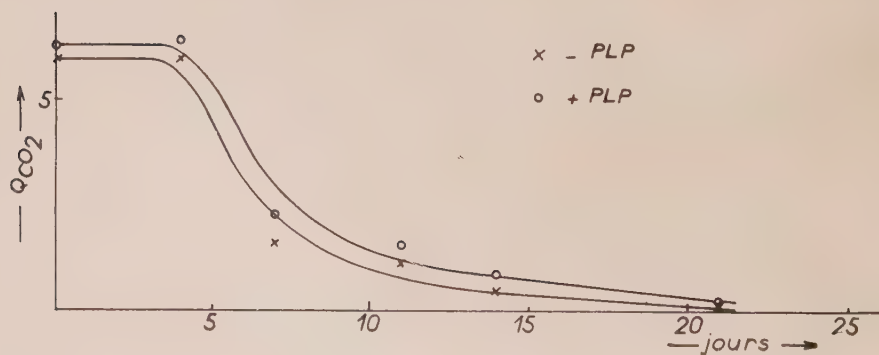
Il est cependant nécessaire de faire quelques remarques. Tout d'abord, il convient de noter que, aux temps zéro de chacune des expériences, les niveaux d'activité enzymatique sont différents (le QCO_2 est d'environ 11 dans le groupe des animaux thyrotoxiques, alors qu'il n'est que d'environ 6 chez les animaux qui seront carencés en pyridoxine). Cette différence est due au fait que les rats de ce

FIGURE 4

Influence, en fonction du temps,
d'injections de 500 μg de DL-Thyroxine par jour
sur la décarboxylase de l'ACS du foie du rat mâle



Influence, en fonction du temps,
d'une carence en pyridoxine
sur la décarboxylase de l'ACS du foie du rat mâle



dernier groupe ont été soumis pendant six jours à un régime synthétique contenant de la pyridoxine et qui permet une croissance normale des animaux, mais qu'un tel régime synthétique a toujours entraîné l'établissement d'un niveau plus faible de décarboxylation. D'autre part, il apparaît que l'action de la thyroxine est beaucoup plus rapide que celle de la carence en pyridoxine : vingt-quatre heures après la première injection de thyroxine, on observe déjà une chute de l'activité ; au bout de trois jours de ce traitement, le niveau de l'activité enzymatique est diminué de moitié et continue d'ailleurs à décroître avec le temps. Au contraire, dans le groupe de rats carencés en vitamine B6, après quatre jours d'un tel régime, le niveau enzymatique demeure constant, toutefois, la chute d'activité se manifeste brutalement ensuite puisque le niveau enzymatique n'est plus, au bout du septième jour de traitement, que le tiers environ de ce qu'il était au départ.

Ces précisions étant données, il reste évident que l'un et l'autre de ces traitements provoquent, au bout de quelques jours, des effets analogues sur l'enzyme.

Des expériences voisines ont été faites sur les enzymes de désulfuration de la cystéine et ont donné les résultats dont certains sont indiqués sur la *figure 5*.

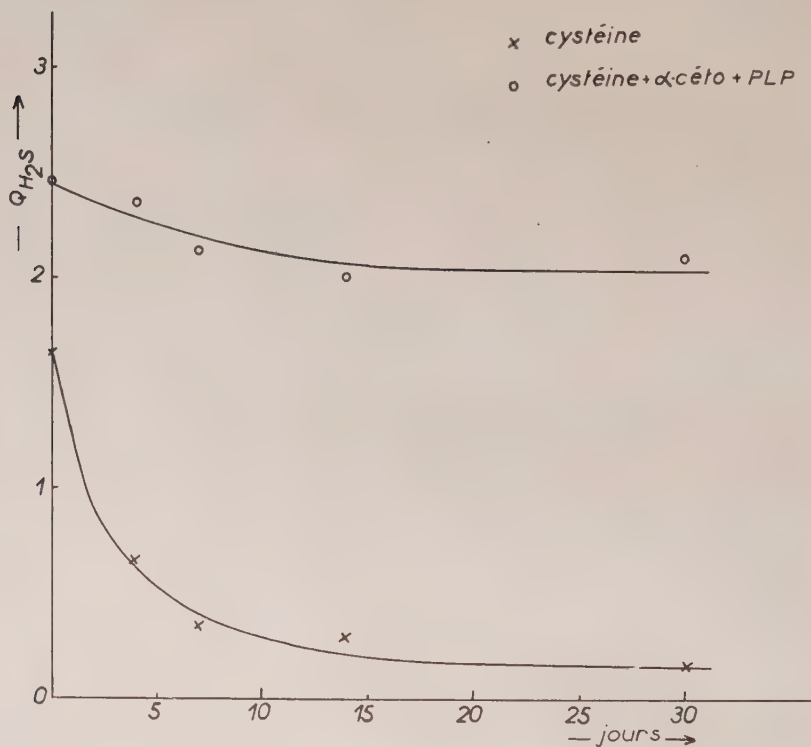
Le point essentiel qui mérite d'être souligné est le suivant : même après un traitement relativement long par des doses élevées de thyroxine (injections de 500 μ g de thyroxine/jour pendant trente jours), il demeure possible de réactiver de manière importante la désulfuration de la cystéine, mesurée sur un homogénat de foie, par addition des deux cofacteurs, phosphate de pyridoxal et acide α -céto-glutarique.

Des déterminations de la désulfuration de la cystéine ont été également faites sur des homogénats de foie de rats soumis au régime dépourvu de vitamine B6, et dans ce cas encore, la réactivation quasi totale de la réaction enzymatique a été obtenue par addition des cofacteurs, même après trente jours de traitement. On observe donc ainsi un parallélisme de comportement de la désulfuration de la cystéine sous l'influence de la thyroxine et sous l'influence d'une carence en pyridoxine, ceci lorsque les mesures sont effectuées sur des homogénats. Toutefois, compte tenu des observations précédentes faites sur la désulfurase soluble et sur les enzymes désulfurants existant dans les fractions particulières, lorsque ces enzymes sont extraits de foie de rats thyrotoxiques, il semble permis de penser que c'est uniquement la transaminase de la cystéine qui reste réactivable par addition des cofacteurs, alors que la désulfurase soluble,

active ou activable, a en grande partie disparu. Cette transaminase manifeste ainsi, aussi bien sous l'influence de l'un que de l'autre traitement, des propriétés différentes de celles présentées par la décarboxylase de l'ACS et par la désulfurase soluble.

FIGURE 5

Influence, en fonction du temps,
d'injections de 500 μ g de DL-Thyroxine par jour
sur la cystéine désulfurase du foie du rat mâle



CHAPITRE II

Dosage du phosphate de pyridoxal dans le foie du rat normal, du rat thyrotoxique et du rat thyroïdectomisé

Ces dosages ont donné les résultats indiqués dans le *Tableau IX*. D'après les chiffres de ce tableau, on constate qu'il y a eu diminution significative ($- 25 \%$) de la teneur en PLP dans le foie du rat thyrotoxique et augmentation, également significative ($+ 40 \%$) de cette teneur dans le foie de l'animal thyroïdectomisé. Signalons cependant que, chez le rat thyrotoxique, le poids du foie n'est que peu diminué par rapport à celui de l'animal témoin, alors que la thyroïdectomie entraîne une diminution de plus de 50% du poids de cet organe.

Alors que nous venions d'effectuer ces dosages, une publication de MASCITELLI-CORIANDOLI et BOLDRINI [47] paraissait, qui était consacrée également aux mesures des variations de la teneur en pyridoxine et en phosphate de pyridoxal dans le foie et le cœur de rats thyrotoxiques. Il nous semble utile ici de faire état de ces résultats et de souligner quelques points. D'après les chiffres indiqués par ces derniers auteurs, chez l'animal normal la teneur en PLP est beaucoup plus faible ($1,55 \pm 0,08 \mu\text{g}$ de PLP/g de foie frais) que celle que nous avons déterminée ($5 \mu\text{g}$ de PLP/g de foie frais), ce dernier chiffre étant calculé d'après nos valeurs expérimentales en admettant que 1 g de foie frais correspond à environ 200 mg de poids sec. Ces différences proviennent probablement du fait que les rats sont soumis à des régimes alimentaires différents, régimes plus ou moins riches en pyridoxine ou modifiant plus ou moins la quantité de coenzyme existant dans le foie. Rappelons que les rats que nous avons utilisés reçoivent l'alimentation habituelle de l'élevage, c'est-à-dire un régime non synthétique, alors que dans les déterminations faites par MASCITELLI-CORIANDOLI et BOLDRINI, les rats reçoivent un régime synthétique comprenant 16% de caséine. Or, nous avons

remarqué au cours d'expériences antérieures, et ce fait a été souligné dans ce mémoire, que certains régimes synthétiques également à base de caséine provoquent une diminution du niveau de la décarboxylation de l'ACS, l'enzyme effectuant cette réaction étant particulièrement sensible à la quantité de PLP présent dans les tissus. D'autre part, la diminution, observée par ces auteurs, de la quantité de PLP dans le foie de l'animal thyrotoxique, est nettement plus forte (diminution de 50 à 60 %) que celle que nous avons constatée dans nos propres expériences et ceci bien que la quantité de thyroxine qu'ils injectent soit de l'ordre de 10 à 20 $\mu\text{g}/\text{animal}/\text{jour}$ pour des rats pesant de 100 à 120 g, le traitement étant effectué pendant dix jours. Or, nous avons vu que ces doses de thyroxine ne provoquent, chez des rats soumis à un régime non synthétique, aucune modification importante des activités de décarboxylation de l'ACS et de désulfuration de la cystéine. On peut, peut-être, en conclure que des animaux ayant, au départ, une teneur plus faible en PLP dans le foie, sont plus sensibles à la thyroxine, mais il se pourrait aussi que cette sensibilité particulière soit due non pas à ce seul facteur, mais à l'ensemble des conditions de traitement auxquelles sont soumis les animaux et en particulier au régime qu'ils reçoivent. Quoi qu'il en soit et malgré ces différences, les résultats de MASCITELLI-CORIANDOI et BOLDRINI sont, dans leur ensemble, en accord avec les nôtres.

Un autre fait mérite d'être souligné : dans nos expériences, les diminutions et augmentations de la quantité de PLP présent dans le foie à la suite d'injections de thyroxine ou à la suite de la thyroïdectomie paraissent relativement faibles en comparaison des perturbations observées sur les activités enzymatiques, puisque la décarboxylation de l'ACS, par exemple, diminue de 70 % sous l'influence des injections de thyroxine, tandis que le taux de PLP est abaissé de 25 %. Il est permis de se demander si une faible variation du taux de coenzyme est susceptible d'entraîner de tels effets sur les enzymes. Cette réserve étant faite, il reste vrai que les deux séries de résultats qui viennent d'être rapportés sont en accord avec l'hypothèse d'une action des hormones thyroïdiennes sur les enzymes à phosphate de pyridoxal par l'intermédiaire d'une variation du taux de leur coenzyme ; en effet, il a été observé d'une part qu'il existe un parallélisme de comportement de la décarboxylation de l'ACS et de la désulfuration de la cystéine sous l'influence d'une carence en vitamine B6 et sous l'influence d'injections de thyroxine, et d'autre part que le taux de PLP est significativement modifié chez l'animal selon l'état thyroïdien de ce dernier, la thyroïdectomie provoquant une augmentation de la teneur du foie en PLP, alors que la thyrotoxicose entraîne une diminution de cette teneur.

TABLEAU IX

Dosages du phosphate de pyridoxal dans le foie du rat normal,
du rat thyrotoxique et du rat thyroïdectomisé

	EXP. I (Rats mâles)		EXP. II (Rats femelles)	
	Témoins	Injectés	Témoins	Thyroïdectomisés
	7	7	8	8
Nombre de rats				
Poids des foies	$5,50 \pm 0,3^*$	$5,20 \pm 0,35$	$6,90 \pm 0,30$	$3,30 \pm 0,20$
Quantité de phosphate de pyridoxal (sel de Na) ($\mu\text{g}/\text{mg}$ poids sec)	$25,5 \pm 2,0$	$19,0 \pm 1,5$	$26,5 \pm 2,0$	$36,5 \pm 2,5$
		$0,01 < P < 0,02^{**}$		$P = 0,01$

* = déviation standard de la moyenne.

**p = facteur de probabilité, par rapport aux animaux témoins.

Il semblait ainsi possible d'imaginer que, dans la mesure où l'on parviendrait à maintenir artificiellement un taux élevé de PLP dans le foie de l'animal thyrotoxique; il devrait s'ensuivre, en quelque sorte, une « protection » de ces enzymes à PLP contre l'action de la thyroxine. Un tel résultat paraissait pouvoir être acquis en injectant à l'animal thyrotoxique des doses élevées de pyridoxine. Toutefois, il convient de préciser très nettement deux points essentiels : pour envisager qu'un traitement par la pyridoxine soit susceptible d'exercer, chez le rat thyrotoxique, une action favorable au niveau des enzymes examinés, il était nécessaire de supposer d'une part que la thyroxine n'agit sur ces enzymes que par l'intermédiaire des variations de la teneur en PLP, et d'autre part que le rat demeure, lorsqu'il est traité par la thyroxine, capable de phosphoryler une quantité appréciable de la pyridoxine qu'on lui fournit. Or, la thyroxine injectée à forte dose a toujours été considérée comme exerçant une action catabolique sur les protéines et cette substance est également capable de découpler les phosphorylations oxydatives, il semble donc assez peu probable que les deux hypothèses qui viennent d'être énoncées se montrent exactes. Cependant, puisqu'il n'existe, dans la bibliographie, aucune indication précise permettant d'exclure l'une et l'autre, alors que d'après DRILL et OVERMAN [48] un traitement par la pyridoxine améliore l'état de rats thyrotoxiques, nous avons entrepris de déterminer expérimentalement l'influence de la pyridoxine, chez le rat thyrotoxique, sur les enzymes examinés.

CHAPITRE III

Influence d'injections de pyridoxine sur la décarboxylation de l'ACS et la désulfuration de la cystéine dans le foie du rat thyrotoxique

Plusieurs séries d'expériences ont été faites dans ce but. D'une manière générale, nous avons employé la pyridoxine à la dose de 5 mg/jour pendant huit jours, les injections étant faites à des rats d'environ 125 g, qui reçoivent également chaque jour une injection de 150 μ g de DL-thyroxine.

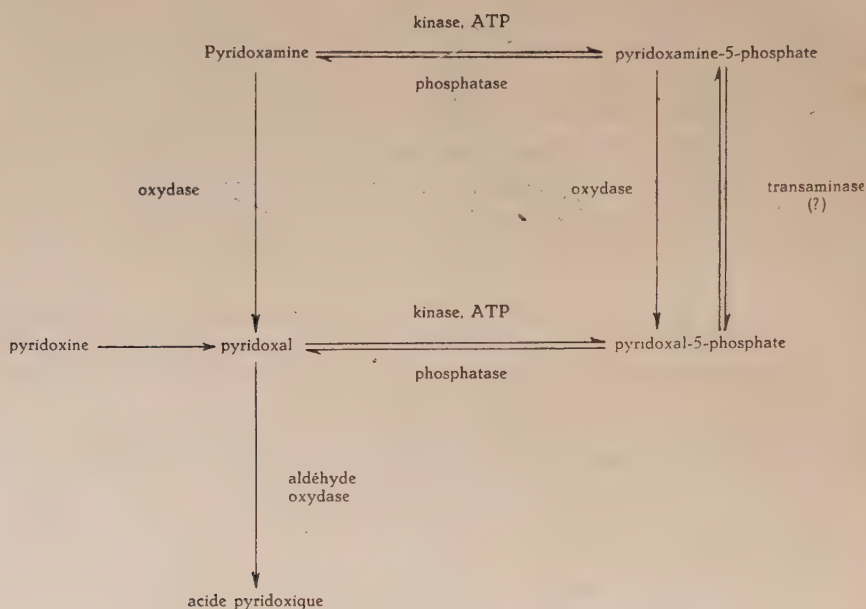
Les conclusions que l'on peut tirer des résultats obtenus lors de ces déterminations sont dans leur ensemble tout à fait concordantes : le traitement par la pyridoxine ne provoque aucun effet bénéfique sur les enzymes.

Dans d'autres essais, nous avons utilisé des animaux thyroïdectomisés qui sont traités par des doses physiologiques de thyroxine en même temps que par la pyridoxine ; dans ces cas encore, les résultats ont été très nets et font apparaître une incapacité totale de la pyridoxine seule à protéger les enzymes.

Un tel résultat pouvoir refléter soit l'absence de corrélation entre taux de coenzyme et niveau des activités enzymatiques, soit une suppression ou tout au moins un ralentissement de la phosphorylation de la pyridoxine et de ses dérivés chez le rat thyrotoxique, ou évidemment provenir de l'intervention de l'un et l'autre phénomène.

Les perturbations des phosphorylations, et tout spécialement des phosphorylations oxydatives, par les hormones thyroïdiennes, sont abondamment décrites, sinon clairement expliquées ; dans une revue très récente consacrée aux actions biochimiques des hormones thyroïdiennes, HOCH [3] fait le point sur cette question. En ce qui concerne le problème qui nous intéresse ici, à savoir la phosphory-

lation de la pyridoxine et de ses dérivés, et d'une manière plus générale le métabolisme de la pyridoxine, le schéma suivant, emprunté à POGELL [49], résume l'essentiel des réactions qui y interviennent :



De l'examen de ce schéma, il ressort que la diminution du PLP sous l'influence des hormones thyroïdiennes peut être le résultat de trois phénomènes principaux :

- une formation accrue d'acide pyridoxique, forme d'excrétion de la pyridoxine, par suite d'une activité plus forte de l'aldéhyde oxydase ;
- une déphosphorylation de la pyridoxamine-5-phosphate ou du pyridoxal-5-phosphate provoquée par une activité plus grande des phosphatases ;
- une phosphorylation réduite de la pyridoxamine ou du pyridoxal qui peut être due soit à une activité plus faible des kinases qui interviennent, soit à un défaut d'ATP.

Un tel schéma a été complété récemment par WADA et SNELL [50]. L'essentiel des résultats de ces auteurs est d'une part une mise en évidence d'une réaction de phosphorylation, par une kinase, de la pyridoxine en pyridoxine-phosphate, laquelle peut être oxydée en pyridoxal-phosphate par une oxydase, ces réactions constitueraient

la principale voie de formation du pyridoxal-phosphate ; d'autre part, dans une seconde publication [51], SNELL et ses collaborateurs précisent qu'il n'existe qu'une même kinase capable de phosphoryler la pyridoxine, la pyridoxamine et le pyridoxal.

Actuellement, on ne possède que peu de données bibliographiques permettant d'aider à l'élucidation du problème du point (ou des points) d'intervention des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme de la pyridoxine et de ses dérivés. Signalons toutefois les résultats de MATHIES et coll. [52] et MEIER [53], d'après lesquels les phosphatases alcalines et acides manifestent une activité accrue dans le rein et le sérum des animaux hyperthyroïdiens, mais il est fort difficile de dire si ce phénomène provoque une déphosphorylation importante de la pyridoxine phosphate, de la pyridoxamine phosphate ou du pyridoxal phosphate. Signalons également que, toujours d'après SNELL et coll. [51], la carence en vitamine B6 n'a qu'un faible effet sur le niveau de la kinase de la pyridoxine et, s'il semble hasardeux d'établir un parallélisme systématique entre les effets d'une telle carence et les perturbations provoquées par les hormones thyroïdiennes, nous n'avons cependant pas retenu l'hypothèse d'une action de ces hormones sur la kinase du pyridoxal. Par contre, il nous a paru très surprenant que l'on n'ait jamais recherché à établir un lien entre taux d'ATP et niveau des phosphorylations chez l'animal thyrotoxique, puisque cette substance se trouve nécessairement impliquée dans ces phénomènes. Les seules indications fournies par la littérature provenaient des résultats d'une étude entreprise par CHILSON et SACKS [54], d'où il ressort que, chez le cobaye thyrotoxique, il n'existe pas dans le foie de modifications significatives du taux d'ATP. Etant donné que nous disposions d'une méthode précise de dosages de l'ATP au moyen d'extrait de lucioles, méthode différente de celle utilisée par CHILSON et SACKS, laquelle fait intervenir la chromatographie sur Dowex 1 suivie de l'élution spécifique des différents nucléotides, nous avons effectué des déterminations du taux d'ATP dans le foie selon l'état thyroïdien de l'animal.

CHAPITRE IV

Dosage de l'ATP dans le foie du rat normal du rat thyrotoxique et du rat thyroïdectomisé

Ces dosages ont fait apparaître les résultats indiqués dans le *Tableau X*. D'après les chiffres de ce tableau, on constate que, dans les conditions utilisées ici (150 μ g de DL-thyroxine/jour, pendant quinze jours), les injections de thyroxine qui provoquent, chez le rat mâle, un ralentissement d'ailleurs peu considérable de la croissance de l'animal, sans modifier sensiblement le poids du foie, entraînent cependant une chute extrêmement importante du taux d'ATP, puisque le taux de cette substance diminue d'environ 70 %. Si l'on calcule la quantité totale d'ATP pour le foie entier, on retrouve évidemment une diminution notable chez l'animal thyrotoxique, étant donné que le poids de l'organe n'est pratiquement pas changé par le traitement.

D'autre part, chez la femelle, la thyroïdectomie provoque un ralentissement considérable de la croissance de l'animal et conduit à une diminution de près de 50 % du poids du foie, cependant, le taux d'ATP par mg de foie frais n'est pas significativement modifié, alors que la quantité totale d'ATP pour l'organe entier est nettement plus faible chez l'animal thyroïdectomisé à cause de la différence considérable du poids du foie selon que le rat est normal ou thyroïdectomisé.

De plus, on observe qu'il existe chez la femelle normale un taux d'ATP dans le foie significativement plus élevé (+ 30 %) que chez le rat mâle ; nous n'avons actuellement aucune explication pour rendre compte de ce fait.

Les résultats que nous avons obtenus lors de ces déterminations du taux d'ATP dans le foie selon l'état thyroïdien de l'animal, sont donc en contradiction nette avec ceux rapportés par CHILSON et SACKS. Or, nos résultats ont été confirmés ultérieurement par REID [55] qui, au cours d'une étude de l'influence de diverses hormones,

TABLEAU X

Dosages de l'ATP dans le foie du rat normal
du rat thyrotoxique et du rat thyroïdectomisé

	EXP. I (Rats mâles)		EXP. II (Rats femelles)	
	Témoins	Injectés	Témoins	Thyroïdectomisés
Nombre de rats	15	15	15	15
Poids des rats (g)				
début des traitements	95 ± 16*	94 ± 13	102 ± 18	99 ± 17
fin des traitements	149 ± 16	134 ± 13	150 ± 9	111 ± 14
Poids des foles (g)	6,50 ± 0,29**	6,45 ± 0,23	6,20 ± 0,18	3,90 ± 0,12
Taux ATP	686 ± 65	207 ± 12	995 ± 123	884 ± 88
(µg ATP/g foie frais)	P << 0,001		0,3 < P < 0,5	
Quantité totale de l'ATP (µg)	4.450	1.335	6.150	3.450

* = moyenne arithmétique des écarts.

** = déviation standard de la moyenne.

P = facteur de probabilité, par rapport aux animaux témoins.

dont la thyroxine, sur les ribonucléotides du foie, observe également une chute du taux d'ATP, et ils viennent d'être à nouveau confirmés par FLETCHER et MYANT [56].

Puisque, d'après nos chiffres, le taux d'ATP est fortement diminué chez l'animal thyrotoxique, on pouvait envisager que la phosphorylation de la pyridoxine et de ses dérivés était, de ce fait, ralentie ou même supprimée; toutefois, on pouvait également envisager que, malgré cet appauvrissement en ATP, la phosphorylation avait lieu, mais qu'il n'existait pas de corrélation obligatoire entre taux de PLP dans le foie et niveau des enzymes. Nous avons d'abord recherché dans quelle mesure la seconde de ces hypothèses est exacte et, pour cela, nous avons simultanément dosé le phosphate de pyridoxal et déterminé le niveau de la décarboxylase de l'ACS dans le foie du rat thyrotoxique traité par la pyridoxine.

REMARQUE

Il semble, à première vue, contradictoire d'avoir précisé (voir page 32) que la thyroïdectomie entraîne des effets globaux sur le rat mâle plus importants que ceux observés chez la femelle, et de dire ici que la thyroïdectomie provoque, chez la femelle, un ralentissement considérable de la croissance et une diminution de près de 50 % du poids du foie. Les raisons de cette apparente contradiction sont les suivantes: les animaux utilisés lors de ces dernières expériences pour le dosage de l'ATP sont beaucoup plus jeunes que ceux employés dans nos premières recherches. En effet, leur poids moyen est d'environ 100 g au début des expériences, ce poids correspond approximativement à un âge de 50 jours pour les rats mâles et de 65 jours pour les femelles; nous avons précédemment étudié l'influence de la thyroïdectomie sur des rats mâles ou femelles d'environ 160 à 175 g. Or, si ce poids correspond, pour les mâles, à des animaux d'environ 80 jours, c'est-à-dire encore en pleine croissance, chez la femelle, il s'agit alors d'animaux ayant déjà dépassé 120 jours et qui ne grossissent pratiquement plus. Nous avons constaté ultérieurement que l'effet global de la thyroïdectomie, aussi bien chez le rat mâle que chez la femelle, est d'autant plus prononcé que l'opération est faite sur des animaux plus jeunes.

CHAPITRE V

Dosage du phosphate de pyridoxal et détermination de l'activité de la décarboxylase de l'ACS chez le rat thyrotoxique recevant de la pyridoxine

Ces expériences ont été conduites dans les conditions précisées dans le *Tableau XI* et ont donné les résultats présentés sur ce même tableau. On constate que, aussi bien dans les homogénats que dans les fractions non particulières de foies de rats thyrotoxiques traités par la pyridoxine, comparés aux mêmes préparations provenant d'animaux normaux, il y a :

- une forte diminution (de l'ordre de 60 %) de l'activité de la décarboxylase de l'ACS, mesurée en présence de PLP. Cette diminution est analogue à celle obtenue dans de nombreuses expériences à la suite d'injections de thyroxine seule et ceci montre à nouveau que les injections de pyridoxine n'ont eu aucun effet protecteur sur le niveau de cet enzyme ;
- par contre, il y a une augmentation très sensible de la quantité de phosphate de pyridoxal présent dans le foie. Cette augmentation, qui est largement significative, atteint environ 25 % pour l'homogénat entier et 40 % pour la fraction non particulière où se trouve localisée la décarboxylase.

De ces résultats, on peut déduire qu'il n'y a pas relation obligatoire entre le taux de PLP présent dans le foie et le niveau de la décarboxylase, ce qui indique en particulier que, malgré la diminution de la teneur en ATP dans le foie, l'animal thyrotoxique reste capable de synthétiser du phosphate de pyridoxal lorsqu'on lui injecte des doses élevées de pyridoxine et cette synthèse est loin d'être négligeable. Il paraît ainsi permis de penser que la thyroxine n'affecte pas, tout au moins de manière appréciable, la kinase de la pyridoxine.

TABLEAU XI

Détermination de la décarboxylation de l'ACS et dosage du PLP sur un homogénat et sur un surnageant de foie de rat mâle ayant reçu pendant quatorze jours des injections simultanées de 150 μg de DL-Thyroxine et de 5 mg de chlorhydrate de pyridoxine

	Normaux	Injectés	% de modification chez les rats injectés
Nombre d'animaux	7	7	
Poids des foies	6,60 $\pm$ 0,30	6,60 $\pm$ 0,30	
<u>Homogénat</u>			
$\mu\text{l CO}_2/\text{h.}/\text{g}$ poids frais	1.897 $\pm$ 194	777 $\pm$ 120 $P < 0,001$	- 59
$\mu\text{g PIP/g}$ poids frais	7,20 $\pm$ 0,30	9,00 $\pm$ 0,35 $0,001 < P < 0,01$	+ 25
<u>Surnageant</u>			
$\mu\text{l CO}_2/\text{h.}/\text{g}$ poids frais	1.625 $\pm$ 159	689 $\pm$ 103 $P < 0,001$	- 58
$\mu\text{g PIP/g}$ poids frais	3,65 $\pm$ 0,20	5,10 $\pm$ 0,20 $P < 0,001$	+ 40

L'activité de décarboxylation est exprimée en $\mu\text{l/litres}$ de CO_2 dégagés par heure et par gramme de poids frais.

Ce dernier enzyme serait donc insensible à cette hormone, de même qu'il est, d'après SNELL et coll. [51], insensible à la carence en pyridoxine.

Il serait vraisemblablement intéressant de rechercher si l'excrétion d'acide 4-pyridoxique est augmentée chez le rat thyrotoxique. En effet, l'apport en pyridoxine et dérivés de cette vitamine est, dans nos conditions expérimentales, le même chez le rat thyrotoxique et chez le rat normal, étant donné qu'ils reçoivent une alimentation identique ; or, la teneur en PLP du foie est plus faible chez le premier que chez le second, et ce fait ne semble pas résulter d'un défaut de phosphorylation de la pyridoxine ; il se pourrait donc que la disponibilité en pyridoxine soit limitée, chez le rat thyrotoxique, par suite d'une formation plus importante d'acide pyridoxique. Quoi qu'il en soit, il est possible de conclure que les effets de la thyroxine sur les enzymes à PLP du foie du rat ne peuvent pas être provoqués seulement par l'intermédiaire d'une variation du taux de coenzyme. Ceci amène à envisager que la thyroxine a probablement une action, tout au moins en ce qui concerne les enzymes de la fraction non particulière du foie, c'est-à-dire ici la décarboxylase de l'ACS et la désulfurase soluble, au niveau des apoenzymes eux-mêmes. On sait que plusieurs enzymes à PLP nécessitent pour leur activité la présence de groupements — SH. Un tel fait a été en particulier démontré pour la décarboxylase de l'ACS [14]. Or, si la thyroxine, étant donné ses propriétés oxydantes, inactive les apoenzymes en oxydant un ou plusieurs sites actifs des molécules protéiques, on peut penser que ce phénomène porte sur les groupements — SH. En effet, d'après GOL'DSHTEIN et GOTOVTSEVA [57], le nombre de groupes — SH de certaines fractions protéiques est diminué chez le rat hyperthyroïdien. Il semble donc que, si l'on favorise l'établissement d'un milieu réducteur dans la cellule hépatique, l'action de la thyroxine, si elle porte sur les groupements — SH des apoenzymes, sera partiellement au moins contrecarrée. Nous avons essayé de vérifier cette hypothèse en injectant à des rats thyrotoxiques deux composés réducteurs.

CHAPITRE VI

Injectons simultanées de thyroxine et de composés réducteurs

Les résultats de ces expériences ont été entièrement négatifs : des injections de 50 à 100 mg d'acide ascorbique par jour, pendant huit jours, faites en même temps que des injections de 75 à 150 μ g de thyroxine à des rats non thyroïdectomisés (doses minima de thyroxine pour avoir un effet net sur les enzymes) n'exercent aucune action protectrice sur l'activité de la décarboxylase de l'ACS.

De même, des injections de 100 à 200 mg de glutathion sont incapables de supprimer la diminution d'activité de la décarboxylase de l'ACS, diminution provoquée par la thyroxine.

Il fallait donc conclure que les composés réducteurs, dans les conditions expérimentales adoptées, n'ont aucune action protectrice contre les effets de la thyroxine, c'est-à-dire que, dans la mesure où la thyroxine inactive les apoenzymes en oxydant un ou plusieurs sites actifs, cette oxydation n'est pas renversée par les moyens adoptés.

On sait d'autre part que des injections de thyroxine provoquent régulièrement une diminution de la teneur en vitamine B12, notamment dans le sang et le foie [58, 59]. On sait également que l'administration de vitamine B12 produit une amélioration de certains troubles entraînés dans l'organisme par un excès de thyroxine [60, 61], en particulier, la diminution du taux de glutathion dans le foie de l'animal hyperthyroïdien est corrigée par un traitement par la vitamine B12 [59]. On pouvait se demander si, dans le cas qui nous intéresse ici, la vitamine B12 était capable d'antagoniser une éventuelle action de la thyroxine au niveau des apoenzymes, peut-être par l'intermédiaire d'une action de cette vitamine sur les groupements sulfhydryles de ces apoenzymes. L'hypothèse d'un effet de la vitamine B12 sur le maintien des enzymes —SH à l'état réduit actif a déjà été formulée [61]. Nous avons donc étudié l'effet des injections de vitamine B12 sur la décarboxylase de l'ACS chez l'animal traité par la thyroxine.

CHAPITRE VII

Injectons simultanées de DL-thyroxine et de vitamine B₁₂

Ces expériences ont été réalisées dans les conditions suivantes : des rats mâles de même souche et de poids très voisin reçoivent pendant trois jours, chaque jour, une injection de 5 μg de vitamine B₁₂ et également, soit une seule injection de 500 μg de DL-thyroxine le premier jour (EXPÉRIENCES I et II), soit une injection quotidienne de 150 μg de DL-thyroxine pendant les trois jours (EXPÉRIENCES III et IV). Les résultats obtenus au cours de ces déterminations sont rapportés dans le *Tableau XII*.

On constate, en examinant les chiffres de ce tableau, que selon les conditions expérimentales adoptées, les résultats sont variables ; en effet, dans les EXPÉRIENCES I et II, où une seule injection de thyroxine est faite, la vitamine B₁₂ manifeste un effet protecteur sur le niveau de la décarboxylase de l'ACS, tandis que dans les EXPÉRIENCES III et IV, où les animaux sont traités chaque jour par la thyroxine, aucune action de la vitamine B₁₂ ne peut être mise en évidence. Notons même que dans les trois dernières expériences, les injections de vitamine B₁₂ ont un effet légèrement inhibiteur sur la décarboxylase de l'ACS.

Il est fort difficile de tirer des conclusions nettes de ces dernières expériences. Nous nous limiterons à souligner que, en dehors de son effet sur le maintien des groupes —SH à l'état réduit, certains auteurs ont reconnu à la vitamine B₁₂ un rôle, qui est encore très mal défini, dans la synthèse des protéines [61, 62]. Nous reviendrons sur ce dernier point dans les conclusions de ce mémoire.

Ces résultats n'apportent donc aucune indication sur le mécanisme par lequel les hormones thyroïdiennes agissent sur les enzymes à PLP, ils permettent tout au plus d'exclure certaines hypothèses : il est clair que l'action des hormones thyroïdiennes sur ces enzymes ne peut être expliquée ni par les faibles variations du taux du coenzyme, ni par une altération, provoquée par ces hormones, au

TABLEAU XII

Influence, sur la décarboxylase de l'ACS, d'injections de vitamine B₁₂ (5 µg chaque jour pendant trois jours) associées soit : (Exp. I et II) à une seule injection de DL-Thyroxine (500 µg le premier jour); soit : (Exp. III et IV) à des injections quotidiennes de thyroxine (150 µg par jour).

EXP.	Nombre rats/groupe	Témoins	Vitamine B ₁₂	Thyroxine	Thyroxine + vitamine B ₁₂
I	5	7,19 ± 0,45	-	5,73 ± 0,30	7,57 ± 0,58 P < 0,001*
II	7	10,11 ± 0,46	8,39 ± 0,33	5,74 ± 0,28	7,93 ± 0,56 P < 0,001
III	4	11,24	10,26	7,56	7,08
IV	8	7,93	6,94	5,02	4,96

Les chiffres représentent les QCO₂ (mesures faites en présence de PLP).

*P = facteur de probabilité, par rapport à la colonne thyroxine.

niveau de groupements —SH des apoenzymes qui seraient nécessaires à l'activité enzymatique.

Cependant il existe indiscutablement une modification du taux des enzymes selon l'état thyroïdien de l'animal et il semble possible d'envisager que cette régulation résulte d'une influence de ces hormones soit sur la synthèse des apoenzymes, soit sur leur dégradation. D'une manière plus précise, on peut penser que, chez l'animal thyrotoxique où les taux des enzymes présents dans la fraction non particulaire du foie (décarboxylase de l'ACS et désulfurase soluble) sont nettement plus faibles que ceux de l'animal normal, il y a soit synthèse réduite, soit dégradation accrue des apoenzymes, alors que la synthèse et la dégradation de l'apoenzyme de la transaminase des particules ne sont pas affectées. De même, chez l'animal thyroïdectomisé, il n'est pas impossible de considérer qu'il y a soit synthèse accrue, soit dégradation réduite des apoenzymes, aussi bien d'ailleurs des enzymes de la fraction soluble que de l'enzyme des fractions particulières. Toutefois, une objection peut être faite à une telle hypothèse ; en effet, ce raisonnement n'est valable que dans la mesure où l'on postule que, dans les divers états thyroïdiens de l'animal, les enzymes varient en quantité mais restent les mêmes, c'est-à-dire qu'il n'y a pas synthèse d'enzymes de structure ou d'activité différentes. Pour réfuter cette objection, nous disposons des arguments suivants :

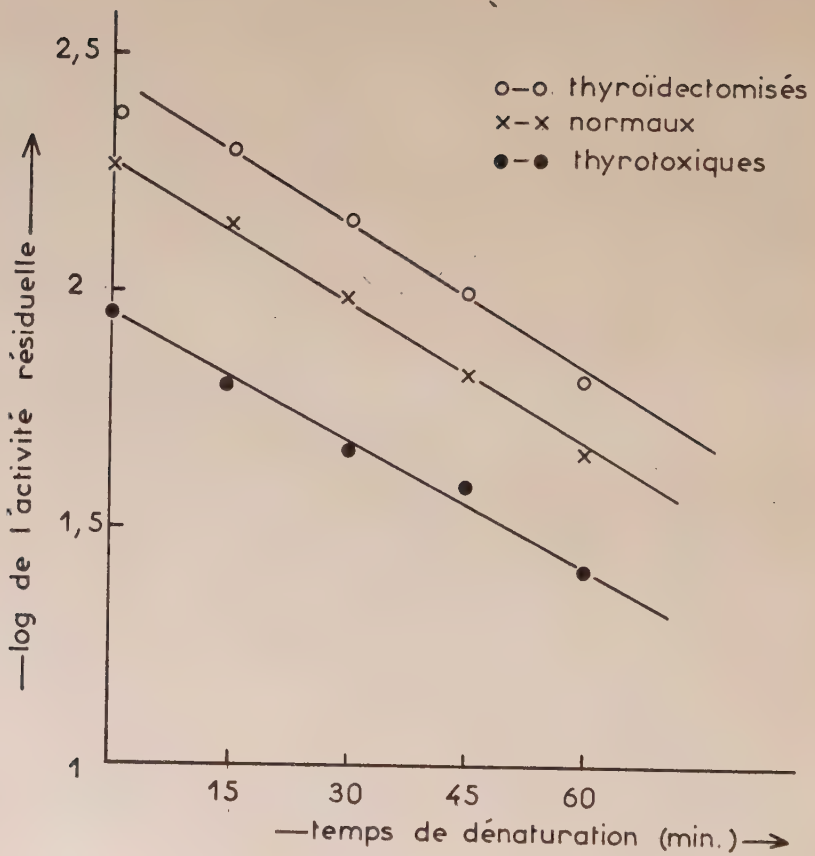
- 1) Une purification assez poussée de la désulfurase soluble a été faite à partir de foies de rats normaux et également à partir de foies de rats thyroïdectomisés. Cette purification fait intervenir des précipitations et des extractions au sulfate d'ammonium des fractions cytoplasmiques, suivies d'une précipitation à l'alcool, ce qui donne une préparation que nous appelons EA30 [63], puis ultérieurement une chromatographie sur colonne de DEAE-cellulose après dénaturation thermique à 70° de EA30 [64]. Or, le comportement de l'enzyme au cours de ces divers traitements reste le même quelle que soit la source de départ. Il semble donc que l'on ait affaire au même enzyme chez le rat normal et chez le rat thyroïdectomisé.
- 2) Si l'on calcule le pourcentage de saturation en PLP de l'apoenzyme de la décarboxylase de ACS, c'est-à-dire si l'on détermine le rapport :

$$\frac{\text{Activité mesurée sans PLP}}{\text{Activité mesurée avec PLP}} \times 100$$

on constate que ce pourcentage de saturation reste remarquablement constant : il est en effet de 96 % chez le rat mâle normal

FIGURE 6

Dénaturation thermique à 65° de la désulfurase soluble



et chez le rat mâle thyrotoxique (voir chiffres du *Tableau II*), de 97 % chez la femelle normale et chez la femelle thyroïdectomisée (voir chiffres indiqués sur la *figure 2*), de 96 % chez la femelle normale traitée par des doses physiologiques de thyroxine et chez la femelle thyroïdectomisée traitée par des doses physiologiques de thyroxine (voir chiffres indiqués sur la *figure 3*). Étant donné que les variations de la teneur en PLP dans le foie de ces divers animaux sont faibles, cette constance du pourcentage de saturation montre que l'on a affaire, dans tous les cas, à la même protéine.

- 3) Enfin, quelques expériences préliminaires ont été faites pour déterminer le comportement de la désulfurase soluble extraite de foies de rats normaux, de foies de rats thyroïdectomisés et de foies de rats thyrotoxiques lors de la dénaturation thermique de l'enzyme. Ces expériences ont été réalisées de la manière suivante : le surnageant cytoplasmique préparé dans la solution de saccharose à 8,5 % est placé pendant cinq minutes dans un bain-marie maintenu à 65°. Il se produit une abondante précipitation. Après centrifugation, le liquide obtenu est à nouveau placé à 65° et des échantillons sont prélevés au temps zéro, puis après quinze, trente, quarante-cinq et soixante minutes. L'activité désulfurante de ces diverses prises est mesurée dans les conditions habituelles. Si l'on établit alors, pour chaque préparation, une courbe des logarithmes de l'activité enzymatique résiduelle en fonction du temps de traitement par la chaleur, on obtient les résultats indiqués dans la *figure 6*.

Les courbes ainsi obtenues sont très sensiblement parallèles, or, l'activité résiduelle mesurée après soixante minutes de traitement à 65° n'est plus qu'environ le quart de l'activité initiale, ce qui permet de penser que la majeure partie au moins des molécules d'enzyme est identique dans les trois groupes d'animaux.

Ces arguments sont donc tous en faveur de l'existence de molécules d'enzyme identiques, au moins pour la désulfurase soluble et pour la décarboxylase de l'ACS, chez les divers animaux examinés.

On peut donc ainsi considérer comme raisonnablement justifiée l'hypothèse d'une action des hormones thyroïdiennes sur les apoenzymes des enzymes du foie soit au niveau de leur synthèse, soit au niveau de leur dégradation ; il reste cependant encore à choisir entre ces deux possibilités, mais nous ne disposons actuellement d'aucun argument expérimental permettant de retenir l'une plutôt que l'autre. Ces points seront examinés ultérieurement.

Résumé et Discussion

Avant d'aborder l'interprétation des divers résultats obtenus au cours de ces recherches et d'en dégager quelques conclusions, il est nécessaire de les regrouper et de les discuter.

Parmi ces résultats, certains sont très nets et sont positifs, en particulier ceux concernant la mise en évidence, dans le foie, d'une régulation par les hormones thyroïdiennes des activités des enzymes à phosphate de pyridoxal et du niveau de leur coenzyme commun : l'état thyroïdien de l'animal a une influence certaine sur les enzymes à phosphate de pyridoxal et sur le taux de phosphate de pyridoxal du foie. Cependant, il est apparu que ces deux phénomènes ne présentent pas la même ampleur : les modifications du taux de phosphate de pyridoxal, bien que significatives, restent faibles dans tous les cas, tandis que les variations des niveaux d'activité sont, dans leur ensemble, beaucoup plus importantes. D'autre part, si les modifications du taux de coenzyme vont dans le même sens que les variations des niveaux des activités enzymatiques, c'est-à-dire si, à une teneur en phosphate de pyridoxal plus grande correspondent des activités plus élevées et, inversement, si des activités réduites s'accompagnent d'une teneur plus faible, il n'est cependant pas possible de retenir l'hypothèse d'un mécanisme de régulation de ces enzymes par les hormones thyroïdiennes par l'intermédiaires des seules variations de la quantité de coenzyme. Toutefois, le taux de coenzyme représente indiscutablement un facteur important pour la détermination du niveau des activités de certains de ces enzymes dans le foie ; à l'appui de cette affirmation, on peut souligner les faits suivants : d'une part, indépendant de toute action des hormones thyroïdiennes, des injections de pyridoxine seule à un rat normal provoquent une augmentation de la décarboxylation de l'acide L-cystéinesulfinique, d'autre part, lors d'une carence en vitamine B₆, les activités de certains enzymes diminuent rapidement et de façon considérable ou même disparaissent.

Les résultats obtenus au cours de mesures de l'activité de la phosphorylase du glycogène dans le foie présentent également un certain intérêt. Si la thyroïdectomie n'affecte pas l'activité de cet enzyme, nous avons constaté que, chez le rat thyrotoxique, pratiquement toute activité de phosphorylase a disparu après quelques jours, ce qui indique que le rat thyroïdectomisé, dans la mesure où il est susceptible d'effectuer la synthèse du glycogène, conserve une capacité normale de dégradation de cette substance, alors que le rat thyrotoxique ne la possède plus. D'après des résultats publiés très récemment par TATA et coll. [65], la teneur en glycogène du foie est sensiblement la même chez le rat normal et chez le rat thyroïdectomisé, mais si l'on injecte de la 3,3',5-triiodothyronine à un rat thyroïdectomisé, on observe, vingt-quatre heures après cette injection, une chute de 50 % du taux de glycogène du foie. Ce résultat peut sembler à première vue contradictoire avec la diminution de la phosphorylase observée sous l'influence de la thyroxine, puisque d'après CAHILL et coll. [29], il semble possible de relier, dans le foie, l'activité de la phosphorylase et la vitesse de dégradation du glycogène. Or, il est bien établi que la teneur en glycogène du foie est fortement réduite chez l'animal thyrotoxique (voir réf. 3, p. 635), il est donc probable que, chez cet animal, une étape au moins de la synthèse du glycogène est affectée et l'on peut penser alors que les deux phénomènes, chute du taux du glycogène et diminution de la teneur en phosphorylase, résultent de mécanismes différents et ne sont en aucune façon reliés. Mais l'on peut également se demander dans quelle mesure de taux de phosphorylase dans le foie et la teneur de ce tissu en glycogène ne sont pas dépendants l'un de l'autre, c'est-à-dire si la phosphorylase du glycogène, dans le foie, ne serait pas un enzyme adaptatif dont le taux dépendrait de la teneur en substrat. Cette hypothèse n'a jusqu'ici, à ma connaissance, jamais été formulée, mais elle mérite semble-t-il d'être examinée expérimentalement.

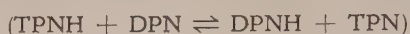
Enfin, il se peut que la thyroxine affecte une des réactions enzymatiques catalysant l'activation ou l'inactivation de la phosphorylase dans le foie. Dans une série de publications [10, 66, 67], SUTHERLAND et coll. ont établi que le niveau de la phosphorylase du glycogène dans le foie résulte d'un équilibre entre l'activation de cet enzyme et son inactivation. L'enzyme actif est déphosphorylé, donc inactivé, par la déphosphophosphorylase, l'enzyme inactif est retransformé en enzyme actif sous l'influence de la déphosphophosphorylase kinase.

D'après ces auteurs, dans le foie de chien, la concentration de la déphosphophosphorylase est suffisante pour catalyser, en quelques

minutes, l'inactivation de toute la phosphorylase présente ; la vitesse de rephosphorylation de l'enzyme inactivé est donc particulièrement importante pour le maintien du taux de l'enzyme actif. Or, cette phosphorylation, catalysée par la déphosphophosphorylase kinase, nécessite la présence d'ATP et d'ions Mg^{++} , d'autre part l'adrénaline et le glucagon accélèrent aussi bien *in vivo* que dans des coupes de foie *in vitro*, cette réaction de phosphorylation. Il n'est pas possible, pour expliquer nos résultats, d'invoquer une potentialisation par la thyroxine de l'action de l'adrénaline, ce qui a été observé dans certains cas (voir réf. 3, p. 650); en effet, un tel phénomène entraînerait une augmentation de la vitesse de phosphorylation de l'enzyme inactivé. Par contre, il n'est pas exclu d'envisager que la suppression de la phosphorylase active chez le rat thyrotoxique résulte d'une diminution de la vitesse de phosphorylation de l'enzyme inactif, diminution provoquée peut-être par un défaut d'ATP.

Un autre résultat positif obtenu au cours de ce travail concerne effectivement la modification spectaculaire du taux de l'ATP dans le foie du rat thyrotoxique, puisque l'on observe chez cet animal une diminution de 70 % de ce taux. Il serait hors de propos de vouloir discuter ici tous les faits susceptibles de rendre compte de ce phénomène, puisque cela conduirait à examiner l'énorme problème posé par les phosphorylations oxydatives. Signalons toutefois quelques observations qui nous paraissent importantes : DICKENS et coll. [68] précisent de manière très nette que si la formation d'ATP à partir d'ADP est couplée à l'oxydation du DPN réduit, on ne possède jusqu'ici aucune preuve de l'existence de phosphorylations oxydatives couplées, de manière importante, à la réoxydation du TPN réduit ; ils précisent également que, chez les animaux hyperthyroïdiens, on observe dans le foie une diminution des teneurs en DPN total, TPN total et TPN réduit, ces derniers résultats provenant d'études faites par GLOCK et MACLEAN [69]. Cependant, d'après MACGUIRE et TOMKINS [70,], le taux de TPN réduit serait augmenté dans le foie du rat thyrotoxique. Or, chez ces mêmes animaux hyperthyroïdiens, certains enzymes fonctionnant avec TPN, tels que les déshydrogénases du glucose-6-phosphate et de l'acide 6-phosphogluconique [71, 72, 73, 74] et, mais d'une manière moins nette, la déshydrogénase de l'acide malique [75] présentent des activités plus fortes que chez l'animal normal. De plus, PHILIPS et LANGDON [76] ont constaté que, chez le rat thyrotoxique, l'activité de la TPN réduit-cytochrome c réductase est considérablement accrue et ces auteurs ont même envisagé que le contrôle de l'activité de cet enzyme par les hormones thyroïdiennes représente un point « primaire » d'action de ces hormones. Enfin, BALL et COOPER [77] ont pu mon-

trer que le TPN réduit n'est oxydé par une préparation de sarco-somes de cœur, préparation qui contient une transhydrogénase :



et un système transporteur d'électrons, mais qui est dépourvue de TPN réduit-cytochrome c réductase, que si l'on ajoute au milieu des traces de DPN, ce qui indique que, normalement, l'oxydation du TPN réduit a lieu d'abord par l'intermédiaire de la transhydrogénase ; de plus, la thyroxine inhibe l'oxydation du TPN réduit par la voie de la transhydrogénase. Il résulte donc de cette action inhibitrice de la thyroxine une suppression de la réoxydation du TPN réduit par le système qui fait intervenir la transhydrogénase, puis la DPN réduit-cytochrome c réductase. Dans ces conditions, le TPN réduit serait oxydé par la TPN réduit-cytochrome c réductase, laquelle est, ainsi que nous l'avons déjà signalé, considérablement augmentée [76] par la thyrotoxicose. La conséquence de cette « déviation » serait ainsi une diminution de la formation d'ATP, puisque l'oxydation directe du TPN est couplée de façon moins efficace aux phosphorylations oxydatives que ne l'est l'oxydation du DPN réduit par son enzyme spécifique.

Disons aussi que, d'après MALEY [78] et MARUYAMA et KOBAYASHI [79], le niveau de l'adénosine triphosphatase est augmenté chez l'animal thyrotoxique, ce qui pourrait également expliquer, au moins en partie, la diminution du taux d'ATP. Ce dernier phénomène semble d'ailleurs se produire de manière très rapide, puisque REID [55] a souligné qu'une seule injection de 100 μg de DL-thyroxine provoque, en vingt-quatre heures, dans le foie du rat, une chute appréciable du taux de l'ATP.

Toutefois, nous avons observé que, malgré cette diminution du taux d'ATP, le foie du rat thyrotoxique conserve une capacité phosphorylante certaine et, en particulier, peut former du PLP en quantité non négligeable lorsque l'on injecte de fortes doses de pyridoxine à l'animal. Un tel résultat rend fort improbable une modification importante de l'activité de la kinase de la pyridoxine et de ses dérivés [51] sous l'influence de la thyroxine.

Lors des essais de protection des enzymes à PLP du foie du rat thyrotoxique par des injections de substances éventuellement susceptibles d'antagoniser l'action inhibitrice de la thyroxine, quelques résultats positifs ont pu être obtenus, au moins dans certaines conditions, et ceci par l'emploi simultané de la pyridoxine et de la vitamine B12. L'influence favorable de la pyridoxine peut, sinon s'expliquer, du moins se comprendre assez facilement, puisque des recherches déjà anciennes [48] avaient souligné que la thyrotoxicose entraîne un

appauvrissement des tissus en diverses vitamines, dont la pyridoxine, et puisque nos propres recherches font apparaître une augmentation de la quantité de PLP du foie après injection de pyridoxine et ceci même chez le rat thyrotoxique. Par contre, le rôle de la vitamine B12 n'apparaît pas de façon immédiate et il est pratiquement impossible de le préciser.

D'autres observations nous paraissent également de quelque intérêt : alors que les enzymes examinés dans le foie sont sensibles aux hormones thyroïdiennes, l'enzyme étudié dans le cerveau, c'est-à-dire la décarboxylase de l'acide glutamique, n'est en aucune façon affectée ni par la thyroïdectomie, ni par des injections de thyroxine. Un tel résultat est en accord avec de nombreuses constatations d'après lesquelles les hormones thyroïdiennes sont sans action sur le métabolisme du cerveau, peut-être parce que les hormones ne pénètrent pas dans ce tissu à cause de l'existence de la barrière hémoméningée.

Un fait important, également mis en évidence au cours de cette étude, est la différence de comportement, sous l'influence de la thyroxine, entre les enzymes à PLP présents dans la fraction non particulière du foie et les enzymes à PLP associés aux fractions particulières. En effet, si la thyroïdectomie provoque une augmentation significative de l'activité des trois enzymes examinés, qui se comportent ainsi de la même manière, chez l'animal thyrotoxique les phénomènes sont nettement différents : alors que l'activité de la transaminase cystéine-acide α -cétoglutarique, mesurée en présence des cofacteurs (PLP et acide α -cétoglutarique) n'est pratiquement pas modifiée, la désulfurase soluble de la cystéine et la décarboxylase de l'ACS manifestent des activités très diminuées et qui ne sont pas susceptibles d'être augmentées par addition de PLP ; or, la transaminase est liée aux fractions particulières, alors que la désulfurase et la décarboxylase sont présentées dans la fraction non particulière du foie. Il semble alors permis de penser que la thyrotoxicose provoque, dans le cas de ces deux dernières enzymes, une disparition d'une fraction importante des apoenzymes activés ou activables ; une telle disparition des mêmes apoenzymes se produit également chez l'animal carencé en vitamine B6. Ces résultats sont donc à première vue en faveur d'une régulation, essentiellement par le taux de PLP disponible, du niveau d'activité des enzymes du surnageant. Toutefois, nous avons vu que, dans le cas de l'animal thyrotoxique au moins, une telle interprétation ne peut pas être retenue. Peut-être faut-il considérer alors que la carence en pyridoxine est susceptible d'altérer la fonction thyroïdienne ; à l'appui de cette suggestion, on peut indiquer les résultats de CAPRETTI et MAGNI [80], d'après lesquels, chez le lapin, un excès de vitamine B6 provoque une hypothyroïdie. Il se

pourrait que le phénomène inverse soit vrai, c'est-à-dire que la carence en pyridoxine entraîne une hyperthyroïdie. Par suite, la diminution du niveau de l'apodécarboxylase de l'ACS observée chez l'animal carencé en pyridoxine pourrait être en fait le résultat d'une action des hormones thyroïdiennes.

En ce qui concerne les enzymes à PLP associés aux fractions particulières, on sait que la liaison apoenzyme-coenzyme est, dans ce cas, beaucoup plus forte qu'elle ne l'est chez les enzymes du surnageant. Après une carence sévère en pyridoxine, certains enzymes des fractions particulières, telles que la transaminase glutamine-acide α -cétonique [81] ou la transaminase ACS-acide α -cétoglutarique [46], conservent leur coenzyme et gardent leur activité. D'après CANAL et coll. [82, 83], alors que la décarboxylase de l'acide cystéique du foie de rat, enzyme présent dans la fraction non particulière, est fortement diminuée chez le rat thyrotoxique, la transaminase acide glutamique-acide pyruvique du foie est augmentée chez ce même animal, or, cette transaminase est associée aux fractions particulières. De plus, il faut souligner que, même si ces enzymes des fractions particulières perdent leur coenzyme comme cela a été observé pour la transaminase cystéine acide α -cétoglutarique chez l'animal thyrotoxique, l'apoenzyme demeure entièrement réactivable par addition des cofacteurs. Ce fait provient peut-être de l'existence de vitesses de renouvellement très différentes pour les apoenzymes de la fraction non particulière et pour les apoenzymes des fractions particulières.

Enfin, un dernier point mérite d'être souligné : il a été question, tout au long de ce mémoire, d'activité des enzymes, mais étant donné que, dans les conditions de mesure que nous avons employées, la quantité de produit formé est proportionnelle à la teneur en enzyme, on peut dire que ces variations d'activité correspondent à des modifications des concentrations en enzyme. De plus, le dosage des protéines a permis de constater que la teneur en protéine, par gramme de foie, reste pratiquement la même chez l'animal normal et chez l'animal thyrotoxique, alors qu'elle est légèrement diminuée chez le rat thyroïdectomisé, donc les variations de concentrations en enzyme reflètent ainsi des variations des quantités d'enzyme par gramme de foie. L'objection d'une synthèse, provoquée par les hormones thyroïdiennes, d'enzymes de structure ou d'activité différentes de celles de l'animal normal a pu être éliminée, au moins en ce qui concerne la décarboxylase de l'ACS et la désulfurase soluble. D'où l'on peut conclure que les enzymes restent les mêmes quel que soit l'état thyroïdien de l'animal et que leur quantité seule est variable selon cet état. Nous avons déjà dit que ce fait peut être le résultat soit d'une

dégradation accrue, soit d'une synthèse réduite de certains apoenzymes sous l'influence de la thyroxine. On sait que, chez le rat thyrotoxique, la concentration en acides aminés libres du foie est augmentée [84]; on peut alors supposer que ce phénomène provient soit d'une dégradation accrue des protéines, soit d'une incorporation plus faible de ces acides aminés dans les protéines. Si les propriétés cataboliques de la thyroxine vis-à-vis des protéines chez l'animal intact adulte sont incontestables [5], il faut cependant souligner, et aussi bien les auteurs de l'ouvrage qui vient d'être mentionné que HOCH [3] l'ont très nettement fait, que selon la quantité de thyroxine administrée et selon l'état métabolique de l'animal, cette hormone peut présenter des propriétés anaboliques ou des propriétés cataboliques. D'après RUPP et coll. [85], et SOKOLOFF et coll. [86], des doses relativement élevées de thyroxine (50 à 100 μ g) injectées à des rats normaux ou à des rats thyroïdectomisés font diminuer ou même suppriment la biosynthèse protéique, alors que des injections de 5 à 10 μ g de thyroxine à des rats thyroïdectomisés stimulent cette biosynthèse. Or, nous n'avons obtenu, chez les rats normaux, de diminution nette des taux d'enzyme qu'en injectant la thyroxine à la dose minimum de 70 μ g de DL-thyroxine par 100 g de poids d'animal; contrairement à ce qu'avait indiqué HORVATH [8], un traitement par 10 μ g d'hormone ne provoque, dans nos expériences, pratiquement aucune variation de la désulfuration de la cystéine. D'autre part, si l'on examine les résultats que nous avons obtenus en injectant à l'animal thyroïdectomisé 10 μ g de DL-thyroxine par jour, on constate qu'il n'y a pas dans ce cas stimulation de la biosynthèse protéique, tout au moins en ce qui concerne l'apodécarboxylase de l'ACS et l'apodésulfurase soluble, puisqu'un tel traitement provoque une nette diminution des niveaux de ces enzymes qui redeviennent voisins de ceux présents chez l'animal normal. Enfin, chez le rat thyroïdectomisé où les taux des enzymes à PLP du foie sont considérablement augmentés, alors que la teneur en protéine de ce tissu est légèrement diminuée, il y aurait synthèse accrue des trois apoenzymes; or, d'une manière générale, on considère que la thyroïdectomie provoque un ralentissement de la biosynthèse protéique.

Les effets de la thyroxine sur la biosynthèse des protéines peuvent refléter une perturbation du métabolisme des acides nucléiques sous l'influence de cette hormone ou une modification, toujours sous l'influence de cette hormone, de certaines substances nécessaires à la biosynthèse des protéines, ou évidemment être la conséquence de l'un et l'autre de ces phénomènes. Bien que plusieurs résultats expérimentaux aient déjà été obtenus concernant des variations des acides nucléiques ou des ribonucléotides ou de diverses substances du foie

lors de l'action des hormones thyroïdiennes, il semble pour l'instant impossible de relier ces résultats entre eux et de proposer une interprétation correcte de l'enchaînement des modifications jusqu'ici démontrées. De plus, il est fort difficile de préciser si les phénomènes que nous avons observés dans le foie au niveau des enzymes à PLP sont dus à des perturbations, provoquées par les hormones thyroïdiennes de la biosynthèse de ces enzymes, ou à des modifications de leur dégradation. Toutefois, il nous paraît d'un intérêt tout spécial de préciser que, s'il y a inhibition de la biosynthèse protéique chez l'animal thyrotoxique, cette inhibition n'intervient que pour les apoenzymes de la fraction non particulaire du foie.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Il serait illusoire de chercher à dissimuler les difficultés rencontrées dans l'interprétation des résultats obtenus lors de recherches effectuées sur l'influence des hormones au niveau du métabolisme cellulaire. Ces difficultés proviennent essentiellement, nous l'avons déjà indiqué dans l'introduction de ce mémoire, de la complexité des phénomènes mis en jeu. Lorsque, après injection d'une hormone ou à la suite de l'ablation d'une glande endocrine, on décèle chez l'animal soumis à ce traitement une perturbation d'une activité enzymatique, on ne peut pas immédiatement conclure à une modification par l'hormone de cette étape métabolique. En effet, un tel phénomène peut résulter, entre autres hypothèses, d'une influence potentialisante de cette hormone sur l'action d'autres hormones. Il semble que nous ayons échappé à cette dernière difficulté : la netteté et la concordance des résultats obtenus lors de nos expériences sur des animaux thyroïdectomisés et sur des animaux thyrotoxiques portent à croire que, dans notre cas, ce sont vraiment les hormones thyroïdiennes elles-mêmes qui agissent. Cette précision étant donnée, il reste à aborder le problème du mécanisme par lequel ces hormones agissent sur les enzymes à phosphate de pyridoxal. Ce problème n'est pas résolu par les expériences décrites dans ce mémoire ; nos résultats éliminent seulement certaines hypothèses et suggèrent de nouvelles recherches. Nous avons pu éliminer l'hypothèse d'une action inhibitrice directe de la thyroxine ou de ses dérivés (au moins la 3,3',5-triiodothyronine) sur les activités des enzymes étudiés, éliminer également l'hypothèse selon laquelle la diminution des taux d'enzyme serait due à la seule modification, par ces hormones, du taux de coenzyme. Nos observations suggèrent que les hormones thyroïdiennes provoquent des perturbations spécifiques au niveau de la biosynthèse ou de la dégradation de certaines protéines enzymatiques. Il s'ensuit que le stade ultérieur des recherches dans le domaine que nous avons abordé serait une étude du mécanisme d'action des hormones thyroïdiennes sur des phénomènes encore mal élucidés lorsqu'il s'agit, dans les organismes supérieurs, de la biosynthèse de protéines définies.

BIBLIOGRAPHIE

1. TEPPERMAN (J.) et TEPPERMAN (H.M.). — *Pharmacological Reviews*, 12 (1960) 301.
2. JOLLES-BERGERET (B.) et CHATAGNER (F.). — *Annales Nutrition Alimentation*, 15 (1961) 1.
3. HOCH (F.L.). — *Physiological Reviews*, 42 (1962) 605.
4. TAPLEY (D.F.) et HATFIELD (W.B.). — *Vitamins and Hormones*, 20 (1962) 251.
5. PITT RIVERS (R.) et TATA (J.R.). — *The Thyroid Hormones*, publié par Pergamon Press, Londres, 1959.
6. HOLTZ (P.), STOCK (K.) et WESTERMAN (E.). — *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol.*, 228 (1956) 322.
7. LITWACK (G.). — *J. Biol. Chem.*, 228 (1957) 823.
8. HORVATH (A.). — *Nature*, 179 (1957) 968.
9. JOHNSON (R.M.), ALBERT (S.) et REEVES (A.). — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 88 (1955) 594.
10. SUTHERLAND (E.W.) et WOSILAIT (W.D.). — *J. Biol. Chem.*, 218 (1956) 459.
11. WINGO (W.J.) et AWAPARA (J.). — *J. Biol. Chem.*, 87 (1950) 267.
12. ROBERTS (E.) et FRANKEL (S.). — *J. Biol. Chem.*, 188 (1951) 789.
13. BERGERET (B.), CHATAGNER (F.) et FROMAGEOT (C.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 17 (1955) 128.
14. DAVISON (A.N.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 19 (1956) 66.
15. BERGERET (B.). — *Thèse de Doctorat ès Sciences*, Paris, 1954.
16. CHATAGNER (F.) et BERGERET (B.). — *C.R. Acad. Sci.*, 232 (1951) 448.
17. CHATAGNER (F.), BERGERET (B.), SÉJOURNÉ (T.) et FROMAGEOT (C.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 9 (1952) 340.
18. BERGERET (B.) et CHATAGNER (F.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 9 (1952) 141.

19. SUMIZU (K.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 53 (1961) 435.
20. CHATAGNER (F.), JOLLES-BERGERET (B.) et LABOUESSE (J.). — *C.R. Acad. Sci.*, 251 (1960) 3097.
21. CHATAGNER (F.), LABOUESSE (J.), TRAUTMANN (O.) et JOLLES-BERGERET (B.). — *C.R. Acad. Sci.*, 253 (1961) 742.
22. CHATAGNER (F.) et TRAUTMANN (O.). — *Nature*, 194 (1962) 1281.
23. MATSUO (Y.) et GREENBERG (D.M.). — *J. Biol. Chem.*, 230 (1958) 545, 561 ; 234 (1959) 507, 516.
24. COHEN (P.P.). — *J. Biol. Chem.*, 133 (1940) XX.
25. MEISTER (A.), FRASER (P.E.) et TICE (S.V.). — *J. Biol. Chem.*, 206 (1954) 561.
26. KUIN (E.) et FANSHIER (D.W.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 27 (1958) 659 ; 32 (1959) 338.
27. THOMPSON (R.Q.) et GUERRANT (N.B.). — *J. Nutrition*, 50 (1953) 161.
28. WIELAND (T.) et FISHER (E.). — *Naturwissenschaften*, 36 (1949) 219.
29. CAHILL (G.F.) Jr, ASHMORE (J.), ZOTTU (S.) et BAIRD HASTINGS (A.). — *J. Biol. Chem.*, 224 (1957) 237.
30. EISENSTEIN (A.E.). — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 109 (1962) 839.
31. EISENSTEIN (A.E.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 58 (1962) 244.
32. FISKE (C.H.) et SUBBAROW (Y.). — *J. Biol. Chem.*, 66 (1925) 375.
33. BARANOWSKI (T.), ILLINGWORTH (B.), BROWN (D.H.) et CORI (C.F.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 25 (1957) 16.
34. CORI (C.F.) et ILLINGWORTH (B.). — *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 43 (1957) 457.
35. ILLINGWORTH (B.), KORNFELD (R.) et BROWN (D.H.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 42 (1960) 486.
36. LOWRY (O.H.), ROSEBROUGH (N.J.), FARR (A.L.) et RANDALL (R.J.). — *J. Biol. Chem.*, 193 (1951) 265.
37. GUNSALUS (I.C.) et SMITH (R.A.). — Dans *Methods in Enzymology*, vol. III, 1957, p. 963, publié par S.P. Colowick et N.O. Kaplan, édité par Academic Press, New York.
38. STREHLER (B.L.) et TOTTER (J.R.). — Dans *Methods of Biochemical Analysis*, vol. 1, 1954, p. 341, publié par D. Glick, édité par Interscience, New York.
39. CHATAGNER (F.) et BERGERET (B.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 38 (1956) 1159.
40. CHATAGNER (F.) et BERGERET (B.). — *C.R. Acad. Sci.*, 244 (1957) 1322.

41. CHATAGNER (F.), BERGERET (B.) et LABOUESSE (J.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 35 (1959) 231.
42. BRAUNSTEIN (A.E.). — Dans *The Enzymes* (2^e édition), édité par P.D. Boyer, H. Lardy et K. Myrback, Academic Press, N.Y., 1960, vol. 2, p. 113.
43. SNELL (E.E.). — *Vitamins and Hormones*, 16 (1958) 77.
44. FISCHER (E.H.), KENT (A.B.), SNYDER (E.R.) et KREBS (E.G.). — *J. Am. Chem. Soc.*, 80 (1958) 2906.
45. KENT (A.B.), KREBS (E.G.) et FISCHER (E.H.). — *J. Biol. Chem.*, 232 (1958) 549.
46. CHATAGNER (F.), TABECHIAN (H.) et BERGERET (B.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 13 (1954) 313.
47. MASCITELLI-CORIANDOLI (E.) et BOLDRINI (R.). — *Experientia*, 15 (1959) 229.
48. DRILL (V.A.) et OVERMAN (R.). — *Am. J. Physiol.*, 135 (1942) 474.
49. POGELL (B.M.). — *J. Biol. Chem.*, 232 (1958) 761.
50. WADA (H.) et SNELL (E.E.). — *J. Biol. Chem.*, 236 (1961) 2089.
51. MCCORNICK (D.B.), GREGORY (M.E.) et SNELL (E.E.). — *J. Biol. Chem.*, 236 (1961) 2076.
52. MATHIES (J.C.), GOODMAN (E.D.) et PALM (L.). — *Am. J. Physiol.*, 168 (1952) 352.
53. MEIER (A.L.). — *Acta Anat.*, 16 (1952) 97.
54. CHILSON (O.P.) et SACKS (J.). — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 101 (1959) 331.
55. REID (E.). — *Memoirs of the Society for Endocrinology*, 11 (1961) 149.
56. FLETCHER (K.) et MYANT (N.B.). — *Endocrinology*, 71 (1962) 870.
57. GOL'DSTEIN (B.I.) et GOTOVTSEVA (E.P.). — *Biokhimiya*, 22 (1957) 994 ; C.A. 52, 8317.
58. GERSHOFF (S.N.), VITALE (J.J.), ANTONOWICZ (I.), NAKAMURA (M.) et HELLERSTEIN (E.L.). — *J. Biol. Chem.*, 231 (1958) 849.
59. KASBEKAR (D.K.), LAVATE (W.V.), REGE (D.V.) et SREENIVASAN (A.). — *Biochem. J.*, 72 (1959) 374.
60. FATTERPAKER (P.), MARPATIA (U.) et SREENIVASAN (A.). — *Nature*, 176 (1955) 165.
61. SMITH (E.L.). — *Nature*, 181 (1958) 305.
62. WAGLE (S.R.) et JOHNSON (B.C.). — *Arch. Biochem. Biophys.*, 70 (1957) 619.
63. JOLLES-BERGERET (B.), BRUN (D.), LABOUESSE (J.) et CHATAGNER (F.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 45 (1963) 397.

64. LOISELET (J.). — Expériences inédites.
65. TATA (J.R.), ERNSTER (L.), LINDBERG (O.), ANBRENUIS (E.), PEDERSEN (S.) et HEDNAN (R.). — *Biochem. J.*, 86 (1963) 408.
66. WOSILAIT (W.D.) et SUTHERLAND (E.W.). — *J. Biol. Chem.*, 218 (1956) 469.
67. RALL (T.W.), SUTHERLAND (E.W.) et WOSILAIT (W.D.). — *J. Biol. Chem.*, 218 (1956) 483.
68. DICKENS (F.), GLOCK (G.E.) et McLEAN (P.). — Dans *Ciba Foundation Symposium on the regulation of cell metabolism*, édité par G.E.W. Wolstenholm et C.M. O'Connor, publié par J. et A. Churchill Ltd, Londres, 1959, p. 150.
69. GLOCK (G.E.) et McLEAN (P.). — *Biochem. J.*, 61 (1955) 397.
70. McGUIRE (H.) et TOMKINS (G.). — *J. Biol. Chem.*, 234 (1954) 791.
71. GLOCK (G.E.) et McLEAN (P.). — *Biochem. J.*, 61 (1955) 390.
72. HUGGINS (C.) et YAO (F.O.). — *J. Exptl. Med.*, 110 (1959) 899.
73. BARGONI (N.), LUZZATI (A.), RINAUDO (M.T.), ROSSINI (L.) et STRUIMIA (E.). — *Hoppe Seyler's Z.*, 326 (1961) 65.
74. LEE (M.), DEBRO (J.R.) et LUCIA (S.P.). — *Arch. Biochem. Biophys.*, 98 (1962) 49.
75. MANSO (C.) et FINO (L.D.). — *Arquiv. Port. Bioquim.*, 5 (1962) 228, C.A. 57, 3951.
76. PHILIPS (A.H.) et LANGDON (R.G.). — *Biochim. Biophys. Acta*, 19 (1956) 380.
77. BALL (E.G.) et COOPER (O.). — *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 43 (1957) 357.
78. MALEY (G.F.). — *Am. J. Physiol.*, 188 (1957) 35, C.A., 51, 8276.
79. MARUYAMA (K.) et KOBAYASHI (H.). — *Endocrinology*, 59 (1956) 213.
80. CAPRETTI (G.) et MAGNI (B.). — *Giorn. Clin. Med. (Parma)*, 32 (1951) 417, cité par R.W. Rawson, J.E. Rall et M. Sonenberg, dans *The Hormones*, Academic Press, New York, vol. III (1955), p. 433.
81. MEISTER (A.), MORRIS (H.P.) et TICE (S.V.). — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 82 (1953) 301.
82. CANAL (N.) et TESSARI (L.). — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 33 (1957) 1472.
83. CANAL (N.), CLEMENTI (M.S.) et MAFFEI-FACCIOLI (A.). — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 34 (1958) 789.
84. FRIEDBERG (F.) et GREENBERG (D.M.). — *J. Biol. Chem.*, 168 (1947) 405.
85. RUPP (J.), PASCHKIS (K.E.) et CANTAROW (A.). — *Endocrinology*, 44 (1949) 449.
86. SOKOLOFF (L.) et KAUFMAN (S.). — *Science*, 129 (1959) 569.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	1
------------------------	---

Première partie

MATERIEL ET METHODES	5
----------------------	---

<i>Chapitre I. — Traitement des animaux</i>	7
---	---

1) <i>Injections de thyroxine</i>	7
2) <i>Injections de pyridoxine et de diverses substances</i>	7
3) <i>Thyroidectomie</i>	8
4) <i>Ovariectomie</i>	8
5) <i>Régime synthétique complet ou carencé en vitamine B6</i>	8

<i>Chapitre II. — Mesure des activités enzymatiques</i>	10
---	----

1) <i>Préparations enzymatiques</i>	10
2) <i>Mesure de la décarboxylation de l'acide L-glutamique</i>	11
3) <i>Mesure de la décarboxylation de l'acide L-cystéinesulfonique</i>	12
4) <i>Mesure de la production d'hydrogène sulfuré à partir de la cystéine</i>	13
5) <i>Mesure de la phosphorylase du glycogène dans le foie</i>	15
6) <i>Dosage des protéines</i>	16

<i>Chapitre III. — Dosage du phosphate de pyridoxal</i>	17
---	----

<i>Chapitre IV. — Dosage de l'adénosine triphosphate</i>	19
--	----

Deuxième partie

MODIFICATIONS OBSERVEES SUR LES ENZYMES A LA SUITE DES TRAITEMENTS HORMONAUX	21
---	----

<i>Chapitre I. — Influence d'injections de fortes doses de DL-thyroxine</i>	23
---	----

<i>Chapitre II. — Répercussion de la thyroidectomie</i>	32
---	----

<i>Chapitre III. — Influence d'injections de doses physiologiques de DL-thyroxine</i>	39
---	----

Troisième partie

RECHERCHES EFFECTUEES EN VUE DE DETERMINER
LE MECANISME D'ACTION DES HORMONES THYROIDIENNES
SUR LES ENZYMES A PHOSPHATE DU PYRIDOXAL DU FOIE 41

Chapitre I. — Déterminations en fonction du temps de traitement, de l'activité de décarboxylation de l'acide cystéinesulfinique et de désulfuration de la cystéine dans le foie du rat thyrotoxique et dans le foie du rat soumis à un régime carencé en vitamine B6 43

Chapitre II. — Dosage du phosphate de pyridoxal dans le foie du rat normal, du rat thyrotoxique et du rat thyroïdectomisé 47

Chapitre III. — Influence d'injections de pyridoxine sur la décarboxylation de l'acide cystéinesulfinique et la désulfuration de la cystéine dans le foie du rat thyrotoxique 51

Chapitre IV. — Dosage de l'adénosine triphosphate dans le foie du rat normal, du rat thyrotoxique et du rat thyroïdectomisé 54

Chapitre V. — Dosage du phosphate de pyridoxal et détermination de l'activité de la décarboxylase de l'acide cystéinesulfinique chez le rat thyrotoxique recevant de la pyridoxine 57

Chapitre VI. — Injections simultanées de thyroxine et de composés réducteurs 60

Chapitre VII. — Injections simultanées de thyroxine et de vitamine B12 . . 61

Quatrième partie

RESUME ET DISCUSSION 67

Conclusions générales 76

Bibliographie 77

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Phosphate de pyridoxal et biosynthèse des acides gras

Vu et approuvé :

Paris, le 29 mai 1963

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

MARC ZAMANSKY

Vu et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

JEAN ROCHE

